

PCT

世界知的所有権機関  
国際事務局

## 特許協力条約に基づいて公開された国際出願



(51) 国際特許分類6 C12N 15/12, 5/10, C07K 14/47, 16/18, A61K 38/17, G01N 33/50		A1	(11) 国際公開番号 WO99/58668  (43) 国際公開日 1999年11月18日(18.11.99)
(21) 国際出願番号 PCT/JP99/02485  (22) 国際出願日 1999年5月13日(13.05.99)  (30) 優先権データ 特願平10/131815 1998年5月14日(14.05.98) JP  (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 小野薬品工業株式会社 (ONO PHARMACEUTICAL CO., LTD.)[JP/JP] 〒541-8526 大阪府大阪市中央区道修町2丁目1番5号 Osaka, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者／出願人 (米国についてのみ) 福島大吉(FUKUSHIMA, Daikichi)[JP/JP] 柴山史朗(SHIBAYAMA, Shiro)[JP/JP] 多田秀明(TADA, Hideaki)[JP/JP] 〒618-8585 大阪府三島郡島本町桜井3丁目1番1号 小野薬品工業株式会社 水無瀬総合研究所内 Osaka, (JP)	(74) 代理人 弁理士 大家邦久, 外(OHIE, Kunihisa et al.) 〒103-0013 東京都中央区日本橋人形町2丁目2番6号 堀口第2ビル7階 大家特許事務所 Tokyo, (JP)  (81) 指定国 JP, KR, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE)  添付公開書類 国際調査報告書		

(54)Title: NOVEL POLYPEPTIDES, cDNAs ENCODING THE SAME AND UTILIZATION THEREOF

(54)発明の名称 新規なポリペプチド、そのポリペプチドをコードするcDNA、およびその用途

## (57) Abstract

Novel human polypeptides being expected as useful in preventing and/or treating various diseases, because of having hematopoietic cell-regulatory activity, tissue generation/reparation activity, activin/inhibin activity, taxis/chemotaxis activity, blood coagulation and thrombus activity, receptor/ligand activity, etc.

## (57)要約

ヒトの新規なポリペプチド、そのポリペプチドをコードするcDNA、およびその用途に関する。

本発明のポリペプチドは、造血細胞制御活性、組織生成／修復活性、アチビン／インヒビン活性、走化性／化学運動性活性、凝血および血栓活性、受容体／リガンド活性等を有し、種々の疾患予防および／または治療に有用と考えられる。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE アラブ首長国連邦	DM ドミニカ	KZ カザフスタン	RU ロシア
AL アルバニア	EE エストニア	LC セントルシア	SDE スーダン
AM アルメニア	ES スペイン	LI リヒテンシュタイン	SEE スウェーデン
AT オーストリア	FI フィンランド	LK スリ・ランカ	SG シンガポール
AC オーストラリア	FR フランス	LR リベリア	S I スロヴェニア
AZ アゼルバイジャン	GA ガボン	LS レソト	SK スロヴァキア
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB 英国	LT リトアニア	SL シエラ・レオネ
BB バルバドス	GD グレナダ	LU ルクセンブルグ	SN セネガル
BE ベルギー	GE グルジア	LV ラトヴィア	SZ スウェーデン
BF ブルガリア・ファソ	GH ガーナ	MA モロッコ	TD チャード
BG ブルガリア	GM ガンビア	MC モナコ	TG トーゴー
BJ ベナン	GN ギニア	MD モルドバ	TJ タジキスタン
BR ブラジル	GW ギニア・ビサオ	MG マダガスカル	TZ タンザニア
BY ベラルーシ	GR ギリシャ	MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TM トルクメニスタン
CA カナダ	HR クロアチア	共和国	TR トルコ
CF 中央アフリカ	HU ベンガリヤー	ML マリ	TT トリニダード・トバゴ
CG コンゴー	ID インドネシア	MN モンゴル	UA ウクライナ
CH スイス	IE アイルランド	MR モーリタニア	UG ウガンダ
CI コートジボアール	IL イスラエル	MW マラウイ	US 米国
CM カメルーン	IN インド	MX メキシコ	UZ ウズベキスタン
CN 中国	IS アイスランド	NE ニジェール	VN ヴィエトナム
CR コスタ・リカ	IT イタリア	NL オランダ	YU ユーゴースラビア
CU キューバ	JP 日本	NO ノルウェー	ZA 南アフリカ共和国
CY キプロス	KE ケニア	NZ ニュージーランド	ZW ジンバブエ
CZ チェコ	KG キルギスタン	PL ポーランド	
DE ドイツ	KP 北朝鮮	PT ポルトガル	
DK デンマーク	KR 韓国	RO ルーマニア	

## 明細書

新規なポリペプチド、そのポリペプチドをコードするc DNA、  
およびその用途

5

## 技術分野

本発明は、新規なポリペプチド、そのポリペプチドをコードするc DNA、  
およびその用途に関する。

10

## 背景技術

従来、ある特定のポリペプチドまたはそれをコードするc DNAを得よう  
とする場合、組織や細胞培養液中に目的とする生物活性を確認し、次いでポ  
リペプチドの単離精製を経て、遺伝子をクローニングするという方法、ある  
いはその生物活性を指標として遺伝子を発現クローニングする方法が一般的  
に用いられてきた。しかし、生体内生理活性ポリペプチドは、多様な生物活  
性を有している場合が多いので、あるひとつの活性を指標にして遺伝子をク  
ローニングした結果、それが既知のポリペプチドと同一であることが後にな  
って判明するという事例が増えている。また、微量しか產生されなかったり、  
特別な生理的条件でのみ発現する因子も多く、そのことが単離、精製および  
20 生物活性の確認を困難なものとしている。

近年、c DNAの作製技術やシークエンス技術は急速に発展し、大量の  
c DNAのシークエンスを迅速に行なうことができるようになった。そこで  
これらの技術を利用して、様々な細胞や組織からc DNAライブラリーを作  
製し、ランダムにc DNAをクローニングして塩基配列を決定し、新規なポ  
リペプチドをコードする遺伝子を単離する方法が発展している。この方法は、  
25 生化学的、遺伝学的な解析を一切必要とせずに遺伝子をクローニングし、そ

の塩基配列の情報を得ることができるという特徴を有しているが、目的とする遺伝子の発見は偶発的要素が大きい。

### 発明の開示

5 本発明者らは、これまで造血系や免疫系で働く増殖分化因子の遺伝子のクローニングを研究してきた。そして、増殖分化因子（例えば、各種サイトカイン等）のような分泌蛋白質やそのレセプターのような膜蛋白質（以下、これらをまとめて分泌蛋白質等と呼ぶ。）の大部分がそのN末端にシグナルペプチドと呼ばれる配列を有していることに着目して、シグナルペプチドをコードする配列を有するcDNAを効率よくかつ選択的にクローニングする方法を鋭意検討した。その結果、動物細胞を用いて、シグナルペプチドの有無を簡単に選別できる方法（シグナルシークエンストラップ（SST）法）を見出した（特開平6-315380号参照）。さらに同じ概念のもとに、酵母を用いてさらに効率よくかつ簡便にシグナルペプチドをコードする遺伝子を単離する方法（酵母SST法）も開発された（米国特許第5,536,637号参照）。

10 15

本方法を用いて、治療、診断、あるいは研究上有益な新規な因子（ポリペプチド）、特に分泌シグナルを有する分泌蛋白質および膜蛋白質に着目してそれを見出すべく、鋭意検討を行なった。その結果、多種多様な分泌蛋白および膜蛋白を產生していると予想される細胞株および組織、例えばヒト成人の脳組織および脳組織由来の細胞株、およびヒト骨髓由来の細胞株が產生している新規な分泌蛋白質あるいは膜蛋白質、およびそれをコードするcDNAを見出すことに成功し、本発明を完成した。

20 25

本発明が提供するcDNA配列は、クローンOC001, OM237, OA004bとして同定され、上記酵母SST法を使用して得た情報を基にヒト成人脳組織および脳組織由来の細胞株（T98G, ATCC No. CRL-1690）から作製したcDNAライブラリーより単離された。クローンOC

001, OM237, OA004bは膜蛋白質（ここではそれぞれOC001, OM237, OA004b蛋白として表わされる）をコードする完全なcDNA配列を含む全長鎖cDNAである。

核酸配列データベースに登録されている既知の核酸配列に対して BLASTN 5 およびFASTAにより、またアミノ酸配列データベースに登録されている既知のポリペプチドのアミノ酸配列に対して BLASTX、BLASTP およびFASTA により検索した結果、本発明のポリペプチドOC001, OM237, OA004bおよびそれをコードする核酸配列と一致する配列はなかった。さらに得られたアミノ酸配列の疎水性プロットによる解析から本発明のポリペプチドは膜貫通領域を持つことが予想された。これらのことから、本発明のポリペプチドOC001, OM237, OA004bは新規な膜蛋白質であることが判明した。

本発明が提供するcDNA配列は、クローンOAF075bとして同定され、上記酵母SST法を使用して得た情報を基に成人のヒト骨髓由来の細胞株HAS303（ヒト骨髓ストローマ細胞株：東京医科大学第一内科外山圭助教授、相沢信助手より供与。J. Cell. Physiol. 148, 245-251, 1991 および Experimental Hematol. 22, 482-487, 1994 に記載）から作製したcDNAライブラリーより単離された。クローンOAF075bは分泌蛋白質（ここではOAF075b蛋白として表わされる）をコードする完全なcDNA配列を含む全長鎖cDNAである。

核酸配列データベースに登録されている既知の核酸配列に対して BLASTN およびFASTAにより、またアミノ酸配列データベースに登録されている既知のポリペプチドのアミノ酸配列に対して BLASTX、BLASTP およびFASTA により検索した結果、本発明のポリペプチドOAF075bおよびそれをコードする核酸配列と一致する配列はなかった。さらに得られたアミノ酸配列の疎水性プロットによる解析から本発明のポリペプチドは膜貫通領域を持たない

いことが予想された。これらのことから、本発明のポリペプチドは、新規な分泌蛋白質であることが判明した。

本発明は、

(1) 配列番号 1、4、6、9 または 12 で示されるアミノ酸配列からなる  
5 ポリペプチド、  
(2) 前記 (1) に記載したポリペプチドをコードする c DNA、  
(3) 配列番号 2、5、7、10 または 13 で示される塩基配列からなる  
c DNA、  
(4) 配列番号 3、8、11 または 14 で示される塩基配列からなる  
10 c DNA に関する。

#### 詳細な説明

本発明は、実質的に純粋な形である配列番号 1、4、6、9 または 12 で示されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、そのホモローグ、その配列の  
15 フラグメントおよびそのホモローグに関する。

本発明はさらに、それらのポリペプチドをコードする c DNA に関する。より具体的には、配列番号 2、5、7、10 または 13 で示される塩基配列からなる c DNA、および配列番号 2、5、7、10、13、3、8、11 または 14 で示される塩基配列に選択的にハイブリダイズするフラグメント  
20 からなる c DNA に関する。ハイブリダイズする c DNA には、上記配列の相補配列も含まれる。ハイブリダイズは、ストリンジエントな条件で行なうことが好ましい。

実質的に純粋な形である配列番号 1、4、6、9 または 12 で示されるアミノ酸配列からなるポリペプチドとは、一般に、生産時のポリペプチドの  
25 90 % 以上、例えば、95、98 または 99 % が配列番号 1、4、6、9 または 12 で示されるアミノ酸配列からなるポリペプチドであることを意味

する。

配列番号1、4、6、9または12で示されるアミノ酸配列からなるポリペプチドのホモローグとは、一般に少なくとも20個、好ましくは少なくとも30個、例えば40、60または100個の連続したアミノ酸領域で、少なくとも70%、好ましくは少なくとも80または90%、より好ましくは95%以上相同性であるものであり、そのようなホモローグは、以下本発明のポリペプチドとして記載される。

さらに、配列番号1、4、6、9または12で示されるアミノ酸配列からなるポリペプチドのフラグメント、またはそれらのホモローグのフラグメントとは、少なくとも10アミノ酸、好ましくは少なくとも15アミノ酸、例えば20、25、30、40、50または60アミノ酸部分を意味する。

配列番号2、5、7、10、13、3、8、11または14で示される塩基配列からなるcDNAに選択的にハイブリダイズするcDNAとは、一般に、少なくとも20個、好ましくは少なくとも30個、例えば40、60または100個の連続した塩基配列領域で、少なくとも70%、好ましくは少なくとも80または90%、より好ましくは95%以上相同性であるものであり、そのようなcDNAは、以下本発明のcDNAとして記載される。

配列番号2、5、7、10、13、3、8、11または14で示される塩基配列からなるcDNAのフラグメントとは、少なくとも10塩基、好ましくは少なくとも15塩基、例えば20、25、30または40塩基部分を意味し、そのようなフラグメントも本発明のcDNAに含まれる。

さらに、本発明には、本発明のcDNAからなる複製または発現ベクターが含まれる。ベクターとしては、例えば、ori領域と、必要により上記cDNAの発現のためのプロモーター、プロモーターの制御因子などからなるプラスミド、ウィルスまたはファージベクターが挙げられる。ベクターはひとつまたはそれ以上の選択的マーカー遺伝子、例えばアンビシリン耐性遺

伝子を含んでいてもよい。ベクターは、イン・ビトロ (in vitro) において、例えばc DNAに対応するRNAの製造、宿主細胞の形質転換に用いることができる。

さらに、本発明には、配列番号2、5、7、10、13、3、8、11または14で示される塩基配列、またはそれらのオープンリーディングフレームを有するc DNAを含む本発明のc DNAを複製または発現させるためのベクターで形質転換された宿主細胞も含まれる。細胞としては、例えば細菌、酵母、昆虫細胞または哺乳動物細胞が挙げられる。

さらに、本発明には、本発明のポリペプチドを発現させるための条件下で、本発明の宿主細胞を培養することからなる本発明のポリペプチドの製造方法も含まれる。培養は、本発明のポリペプチドが発現し、宿主細胞より製造される条件下で行なわれることが好ましい。

本発明のc DNAは、上記のようなベクターのアンチセンス領域に挿入することでアンチセンスRNAを製造することもできる。このようなアンチセンスRNAは、細胞中の本発明のポリペプチドのレベルを制御することに用いることができる。

本発明は、本発明におけるポリペプチドのモノクローナルまたはポリクローナル抗体も含む。さらに本発明におけるポリペプチドのモノクローナルまたはポリクローナル抗体の製造方法も含む。モノクローナル抗体は、本発明のペプチドまたはその断片を抗原として用い、通常のハイブリドーマの技術により製造することができる。ポリクローナル抗体は、宿主動物（例えば、ラットやウサギ等）に本発明のポリペプチドを接種し、免疫血清を回収する、通常の方法により製造することができる。

本発明には、本発明のポリペプチド、その抗体と薬学的に許容される賦形剤および/または担体を含有する薬学的組成物も含まれる。

(1) の本発明のポリペプチドとしては、配列番号1、4、6、9または

12で示されたアミノ酸配列からなるもの以外に、その一部が欠損したもの（例えば、配列番号1中、生物活性の発現に必要な部分だけからなるポリペプチド等）、その一部が他のアミノ酸と置換したもの（例えば、物性の類似したアミノ酸に置換したもの）、および本発明のポリペプチドに他のアミノ酸が付加または挿入されたものも含まれる。

よく知られているように、ひとつのアミノ酸をコードするコドンは1～6種類（例えば、Metは1種類、Leuは6種類）知られている。従って、ポリペプチドのアミノ酸配列を変えることなくcDNAの塩基配列を変えることができる。

10 (2)で特定される本発明のcDNAには、(1)の配列番号1、4、6、9または12で示されるポリペプチドをコードするすべての塩基配列群が含まれる。塩基配列を変えることによって、ポリペプチドの生産性が向上することがある。

15 (3)で特定されるcDNAは、(2)で示されるcDNAの一態様であり、天然型配列を表わす。

(4)に示されるcDNAは、(3)で特定されるcDNAに天然の非翻訳部分を加えた配列を示す。

配列番号3、8、11または14で示される塩基配列を有するcDNAの作製は、以下の方法に従って行なわれる。

20 はじめに酵母SST法（米国特許No.5,536,637に記載）の概要について説明する。

25 サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) などの酵母がショ糖またはラフィノースをエネルギー源や炭素源として利用するためにはインベルターゼを培地中に分泌しなければならない（インベルターゼはラフィノースをショ糖とメリビオースに、ショ糖をフルクトースとグルコースに分解する酵素である。）。また数多くの既知の哺乳類のシグナルペプチドは酵母の

インペルターゼを分泌させうることが知られている。これらの知見から、酵母のインペルターゼの分泌を可能にする新規のシグナルペプチドを哺乳類のcDNAライブラリーからラフィノース培地上での酵母の生育を指標にスクリーニングする方法として本方法は開発された。翻訳開始点A T Gを削除した5 非分泌型のインペルターゼ遺伝子SUC2 (GENBANK accession No.V01311) を酵母の発現ベクター (発現用プロモーター (ADHプロモーター) およびターミネーター (ADHターミネーター) はAAH5プラスミド (Gammerer, Methods in Enzymol. 101,192-201,1983) 由来で、酵母複製起点は2 μ or i、酵母選択マーカーにはTRP1、大腸菌複製起点はC01E1 10 or i、大腸菌薬剤耐性マーカーにはアンピシリンが使用されている) に組み込んで酵母SST用ベクターpSUC2を作製した。そのSUC2遺伝子の上流に哺乳類のcDNAを組み込んで、酵母SST cDNAライブラリーを調製した。このライブラリーを分泌型インペルターゼを欠損している酵母に形質転換した。組み込まれた哺乳類cDNAがシグナルペプチドをコード 15 している場合、酵母で発現されたインペルターゼに対しても分泌作用をもつと考えられ、その結果ラフィノース培地上での生育が可能となる。よって出現したコロニーから酵母を培養してプラスミドを調製し、インサートcDNAの塩基配列を決定することによって、新規シグナルペプチドの検索を迅速かつ容易にした。

20 酵母SST cDNAライブラリーの作製は

- (1) 対象となる細胞よりmRNAを単離し、特定の制限酵素 (酵素I) サイトを連結したランダムプライマーを用いて二本鎖cDNAを合成し、
- (2) 酵素Iとは異なる特定の制限酵素 (酵素II) サイトを含むアダプターを連結して、酵素Iで消化した後、適当なサイズで分画し、
- 25 (3) 酵母発現ベクター内のシグナルペプチドを削除したインペルターゼ遺伝子の上流に得られたcDNA断片を連結し、形質転換する工程よりなる。

各工程を詳しく説明すると、工程（1）では、対象となる哺乳類の臓器や細胞株などより、必要により適当な刺激剤で刺激した後、公知の方法（以下、公知の方法は特に記載がなければ Molecular Cloning (Sambrook, J., Fritsch, E. F. および Maniatis, T. 著、Cold Spring Harbor Laboratory Press より 1989 年に発刊) 5 または Current Protocol in Molecular Biology (F. M. Ausubel ら編、John Wiley & Sons, Inc より発刊) に記載の方法に従って行なわれる。）に従って mRNA の単離が行なわれる。

対象となる細胞としては、H A S 3 0 3 (ヒト骨髄ストローマ細胞株：東京医科大学第一内科外山圭助教授、相沢信助手より供与。J. Cell. Physiol. 148, 10 245-251, 1991 および Experimental Hematol. 22, 482-487, 1994 に記載)、またはヒトグリア芽腫細胞株 T 9 8 G (ATCC No.CRL-1690) が挙げられる。また組織としては、ヒト成人脳が挙げられる。ランダムプライマーを用いる二本鎖 c DNA の合成は公知の方法により行なわれる。

アダプターに連結される制限酵素（酵素 I）サイトと次の工程（2）で用いられる制限酵素（酵素 II）サイトは、互いに異なるものであれば何を用いてもよい。好ましくは、酵素 I として X h o I 、酵素 II としては E c o R I が用いられる。

工程（2）では T 4 DNA ポリメラーゼで末端を平滑化し、酵素 II アダプターを連結した後、酵素 I で消化し、アガロース電気泳動（A G E）により 20 3 0 0 ~ 8 0 0 b p の c DNA を分画する。酵素 II は、前記したように酵素 I と異なるものなら何でもよい。

工程（3）は、酵母発現用プラスミドベクターに連結されたシグナルペプチドを削除したインペルターゼの遺伝子の上流に（2）で得られた c DNA 断片を組み込んで大腸菌に形質転換する工程である。ここで酵母発現用プラスミドベクターとしては種々のものが知られている。例えば、大腸菌内でも機能する Y E p 2 4 などが用いられるが、好適には前述したプラスミド p S

UC 2が用いられる。

形質転換のための宿主大腸菌株はすでに多くのものが知られており、好ましくはDH10Bのコンピテントセルである。また形質転換方法は公知のいずれを用いてもよいが、好ましくはエレクトロポレーション法により行なわれる。5 形質転換体は常法により培養され、酵母SST用のcDNAライブラリーが得られる。

このcDNAライブラリーでは、すべてのクローンにcDNA断片が導入されている訳ではないし、またすべてが未知の（新規な）シグナルペプチドをコードする遺伝子断片とは限らない。そこで、次にこのライブラリーから10 未知のシグナルペプチドをコードする遺伝子断片をスクリーニングする必要がある。

そのためには、cDNAライブラリーをインペルターゼ遺伝子をもたない酵母サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) (例えばYT455株など) またはインペルターゼ遺伝子を人為的に欠損させた株 (公知の方15 法に従い作製可能) に、該cDNAライブラリーを導入し、シグナルペプチドをコードする配列を有する断片のスクリーニングを行なう。

酵母の形質転換は公知の方法、例えば酢酸リチウム法によって行なわれる。形質転換体を選択培地で生育後、ラフィノースを炭素源とする培地に移し、生育可能なコロニーを選択し、プラスミドを回収する。ラフィノースを炭素20 源として酵母が生育したということは、ライブラリー中に何らかの分泌蛋白質のシグナルペプチドが組み込まれていたことを示している。

次に、単離した陽性クローンについて、塩基配列を決定し、未知の蛋白質をコードすることが明らかになったcDNAについては、それをプローブとして全長クローンを単離し、全長の塩基配列を決定することができる。これらの操作は、当業者にとってすべて公知の方法で行なわれる。25

配列番号2、5、7、10または13で示される塩基配列が、一部、好ま

しくは全てが確定されると哺乳類に存在する本発明の蛋白質をコードする c DNA もしくは本発明蛋白質のホモローグおよびサブセットをコードする c DNA を得ることができる。適当な塩基配列を有するオリゴヌクレオチドを合成し、それを用いて、哺乳類由来の c DNA ライブラリーあるいは mRNA 5 A から PCR 法により、あるいは適当な塩基配列の断片をプローブとしてハイブリダイズさせることにより、他の哺乳類 c DNA ライブラリーあるいは該ゲノムライブラリーから、他の哺乳類型の当該蛋白質をコードする c DNA を得ることができる。

このようにして得られた c DNA が、SST で得られた c DNA 断片の塩基配列（またはその相同配列）を含んでいるならばシグナルペプチドをコードしていることになるので、該 c DNA が全長、またはほぼ全長であることは明らかである（シグナルペプチドは例外なく蛋白質の N 末端に存在することから、c DNA のオープンリーディングフレームの 5' 末端にコードされている。）。

15 さらに公知の方法に従い、該 c DNA をプローブとしてノザン (Northern) 解析によって全長の確認してもよい。ハイブリダイズしたバンドから得られる mRNA のサイズと該 c DNA のサイズを比較し、ほぼ同じであれば該 c DNA はほぼ全長であると考えられる。

配列番号 2、5、7、10 または 13 で示される塩基配列が一旦確定され 20 ると、その後は、化学合成によって、あるいは該塩基配列の断片を化学合成し、これをプローブとしてハイブリダイズさせることにより、本発明の c DNA を得ることができる。さらに、本発明の c DNA を含有するベクター c DNA を適当な宿主に導入し、これを増殖させることによって、目的とする c DNA を必要量得ることができる。

25 本発明のポリペプチドを取得する方法としては、

(1) 生体または培養細胞から精製単離する方法、

(2) ペプチド合成する方法、または

(3) 遺伝子組み換え技術を用いて生産する方法、

などが挙げられるが、工業的には(3)に記載した方法が好ましい。

遺伝子組み換え技術を用いてポリペプチドを生産するための発現系(宿主  
5 一ベクター系)としては、例えば、細菌、酵母、昆虫細胞および哺乳動物細  
胞の発現系が挙げられる。

例えば、大腸菌で発現させる場合には、成熟蛋白部分をコードするcDNA  
Aの5'末端に開始コドン(ATG)を付加し、得られたcDNAを、適当  
なプロモーター(例えば、trpプロモーター、lacプロモーター、λP  
10 Lプロモーター、T7プロモーター等)の下流に接続し、大腸菌内で機能す  
るベクター(例えば、pBR322、pUC18、pUC19等)に挿入し  
て発現ベクターを作製する。

次に、この発現ベクターで形質転換した大腸菌(例えば、E.Coli DH1、  
E.Coli JM109、E.Coli HB101株等)を適当な培地で培養して、その  
15 菌体より目的とするポリペプチドを得ることができる。また、バクテリアの  
シグナルペプチド(例えば、pelBのシグナルペプチド)を利用すれば、  
ペリプラズム中に目的とするポリペプチドを分泌することもできる。さらに、  
他のポリペプチドとのフュージョン・プロテイン(fusion protein)を生産する  
こともできる。

20 また、哺乳動物細胞で発現させる場合には、例えば、配列番号3、8、1  
1または14で示される塩基配列をコードするcDNAを適当なベクター  
(例えば、レトロウイルスベクター、パピローマウイルスベクター、ワクシ  
ニアウイルスベクター、SV40系ベクター等)中の適当なプロモーター(例  
えば、SV40プロモーター、LTRプロモーター、メタロチオネインプロ  
25 モーター等)の下流に挿入して発現ベクターを作製する。次に、得られた発  
現ベクターで適当な哺乳動物細胞(例えば、サルCOS-7細胞、チャイニ

ーズハムスター CHO 細胞、マウス L 細胞等) を形質転換し、形質転換体を適當な培地で培養することによって、本発明の蛋白が分泌蛋白の場合と膜蛋白の場合で、次のように発現される。

本発明の蛋白が分泌蛋白の場合、その細胞上清中に目的とするポリペプチドが発現される。さらに、その他のポリペプチド、例えば抗体の定常領域 (Fc portion) をコードする c DNA 断片と連結することによって、フュージョン・プロテイン (fusion protein) を生産することもできる。

一方、本発明の蛋白が膜蛋白の場合、その細胞膜上に目的とするポリペプチドが発現される。また配列番号 2、5、7、10 または 13 で示される塩基配列の膜貫通領域を欠いた欠失体を上記ベクターに挿入し、これを用いて適當な哺乳類動物細胞を形質転換することによって、その培養液中に目的とする可溶性ポリペプチドが分泌される。さらにその膜貫通領域を欠いた欠失体をコードする c DNA 断片とその他のポリペプチド、例えば抗体の定常領域 (Fc portion) をコードする c DNA 断片を連結することによって、フュージョン・プロテイン (fusion protein) を生産することもできる。

以上のようにして得られたポリペプチドは、一般的な生化学的方法によって単離精製することができる。

#### 産業上の利用可能性

本発明のポリペプチドおよびそれをコードする c DNA は、一つあるいはそれ以上の効果あるいは生物活性 (以下に列挙するアッセイに関連するものを含む) を示すことが考えられる。本発明の蛋白に関して記述される効果あるいは生物活性は、その蛋白の投与あるいは使用により、あるいはその蛋白をコードする c DNA の投与あるいは使用 (例えば、遺伝子療法や c DNA 導入に適したベクター) により、提供される。

[サイトカイン活性および細胞増殖／分化活性]

本発明の蛋白は、サイトカイン活性および細胞増殖（誘導あるいは阻害）／分化活性（誘導あるいは阻害）を示す可能性、あるいはある細胞集団に他のサイトカインの産生を誘導あるいは抑制すると考えられる。全ての既知のサイトカインを含む、現在発見されている多くの蛋白性因子は、因子に依存した一つあるいはそれ以上の細胞増殖アッセイ法で、活性を示してきたので、それらのアッセイは、サイトカイン活性の便利な確認法として機能する。本発明の蛋白の活性は、多くの従来の因子依存性の細胞株の細胞増殖アッセイのうちのいずれかによって証明され得る。

[免疫刺激／抑制活性]

10 本発明の蛋白は、免疫刺激活性および免疫抑制活性をも示すと考えられる。また、ある蛋白は、例えば、Tリンパ球およびBリンパ球あるいはどちらか一方の成長および増殖を制御（刺激あるいは抑制）することや、同様にNK細胞や他の集団の細胞傷害性活性に影響を与えることによって、様々な免疫不全および疾患（severe combined immunodeficiency (S C I D) を含む）の治療に効果を示すと考えられる。これらの免疫不全は遺伝性である場合もあるし、例えばH I Vのようなウィルスや、同様に細菌やカビの感染が原因で起こる場合もある。あるいは、自己免疫疾患から由来する可能性もある。具体的には、H I V、肝炎ウイルス (hepatitis viruses)、ヘルペスウイルス (herpes viruses)、マイコバクテリア (mycobacteria)、リーシュマニア (leishmania)、マラリア (malaria) およびカンジダ (candida) のような様々なカビ感染を含む、ウィルス、細菌、カビあるいは他の感染による感染症の原因を、本発明の蛋白を用いることによって治療できると考えられる。もちろん、この関連より、本発明の蛋白は、免疫システムが増大していることが一般的に示唆される場所、すなわち癌治療の箇所において効果を示すと考えられる。

25 本発明の蛋白は、アレルギー反応および喘息や他の呼吸器系疾患のような状況の治療に効果にも効果を示すと考えられる。免疫抑制が望まれるような

他の状態（例えば、喘息や関連呼吸器疾患を含む）にも、本発明の蛋白を用いて治療できると考えられる。

本発明の蛋白は、例えば、敗血病性のショックあるいは全身性炎症反応症候群（S I R S）のような炎症性大腸炎、クローン病、あるいはI L - 1 1 5 により効果が証明されたようなT N FやI L - 1のようなサイトカインの過剰産生から由来するような感染に関連した慢性あるいは急性の炎症を抑制する可能性もある。

#### [造血細胞制御活性]

本発明の蛋白は、造血細胞の制御に、またそれに応じて骨髄球様細胞あるいはリンパ球様細胞の欠乏に対する治療にも効果を示すと考えられる。コロニーフォーミング細胞あるいは因子依存性細胞株の援助の下での極く弱い生物活性でさえも、造血細胞の制御に係わることを示唆する。その生物活性とは、次に挙げる例の全てあるいはそのいずれかでたとえられるようなものに係わるものである。赤血球前駆細胞のみの成長および増殖を支持、あるいは他のサイトカインとの組み合わせ、また、それが示唆する有効性、例えば様々な貧血の治療、あるいは赤血球前駆細胞および赤血球あるいはそのどちらかの産生を刺激する放射線療法／化学療法と組み合わせての使用；顆粒球および单球／マクロファージのような骨髄球の成長および増殖を支持（すなわち、古典的なC S F活性）、化学療法に伴う骨髄抑制を防ぐための化学療法との併用；巨核球の成長および増殖およびそれに続く血小板の成長および増殖の支持、それによって血小板減少症のような様々な血小板障害を防御および治療を可能とする血小板輸血の際あるいは相補的に一般的な使用；上記造血細胞の幾つかあるいは全ての細胞へ成熟可能な造血幹細胞の成長および増殖の支持、従って、様々な幹細胞障害（限定はされないが、再生不良性貧血および発作性夜間血色素尿症を含む、移植で一般的に治療されるようなもの）に治療的効果を示し、また正常細胞あるいは遺伝子療法のため遺伝的に操作された細胞

をイン・ビトロ (in-vitro) あるいはエクス・ビボ (ex-vivo) (すなわち、骨髄移植に伴う) どちらかで、放射線療法／化学療法後の幹細胞分画の再構築を行なうことも同様である。

種々の造血幹細胞株の増殖と分化に対する適切なアッセイは、上記に記載  
5 されている。

本発明の蛋白は、他の方法の中で、以下の方法により測定することが可能  
である。

#### [組織生成／修復活性]

本発明の蛋白は、損傷治癒および組織修復、また、火傷、切開、および潰  
10 瘍の治療と同様に、骨、軟骨、腱、靭帯、および神経組織成長あるいは再生  
のいずれかに使用されると考えられる。

骨を正常に形成しない環境での軟骨および骨あるいはいずれかの成長を誘  
導するような本発明の蛋白は、ヒトおよび他の動物の骨折および軟骨損傷ある  
いは欠損の治癒に適用される。本発明の蛋白を使用している製剤は、開放  
15 骨折と同様に閉鎖骨折の整復、また人工関節の固定の改良にも予防的にも使  
用できると考えられる。骨形成剤により誘導された新生骨形成は、先天性、  
外傷性、癌切除術により誘発した頭蓋顔面の欠損の修復に貢献する。また、  
美容形成外科分野にも有効である。

本発明の蛋白は、歯根膜症の治療および他の歯の修復にも使用されると考  
えられる。そのような薬品は、骨形成細胞を引き寄せ、その細胞の増殖を刺  
激し、その前駆細胞の分化を誘導する環境を提供すると考えられる。本発明  
の蛋白は、骨および軟骨あるいはいずれかの修復を刺激することを通して、  
あるいは炎症あるいは炎症過程で介される組織破壊（コラゲナーゼ活性や破  
骨細胞の活性）の過程を阻止することにより、骨粗鬆症および骨関節炎の治  
25 療に有効と考えられる。

本発明の蛋白に起因すると考えられる組織再生活性の別のカテゴリーは腱

／韌帯形成である。本発明の蛋白は、腱／韌帯様組織あるいは他の組織が正常に形成されない環境でそのような組織形成を誘導するものであるが、ヒトおよび他の動物における腱／韌帯の裂傷、奇形、および他の腱／韌帯の障害の治癒に適用できる。腱／韌帯様組織を誘導する蛋白を使用している製剤は、  
5 骨あるいは他の組織への腱／韌帯の固定の改良、および腱／韌帯組織の欠損の修復での使用はもちろん、腱あるいは韌帯の損傷の防御に対して予防的使用も考えられる。本発明の構成物により誘導された新生腱／韌帯様組織形成は、先天性、外傷、あるいは他の起源の腱あるいは韌帯欠損の修復に貢献する。また、腱あるいは韌帯の貼付あるいは修復という美容形成外科でも有効  
10 である。本発明の構成物は、腱／韌帯形成細胞を引き寄せ、その細胞の増殖を刺激し、その前駆細胞の分化を誘導する環境を提供すると考えられる。あるいは、組織修復を果たすためイン・ビボ (in vivo) への返還に備えてエクス・ビボ (ex vivo) で腱／韌帯細胞あるいはその前駆細胞を誘導する。該発明の構成物は、腱炎、手根トンネル症候群 (Carpal tunnel syndrome)、および  
15 他の腱あるいは韌帯欠損の治療にも有効である。該構成物には、適当なマトリックスおよびキャリアーと同様に当業者に良く知られているシークエスタリング (Sequestering) 剤も含まれる。

本発明の蛋白は、神経細胞の増殖、および神経および脳組織の再生、すなわち神経細胞あるいは神経組織に対する変性、死、あるいは外傷を含む機械的および外傷的障害と同様に中枢および末梢神経系疾患および神経病の治療に対しても効果を示すと考えられる。具体的には、ある蛋白は、末梢神経障害、末梢神経症、および局所的神経症のような末梢神経系の疾患、およびアルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、筋萎縮性側索症 (amyotrophic lateral)、およびシャイ・ドレーガー (Shy-Drager) 症候群のような中枢神経系の疾患の治療に有効であると考えられる。更に本発明に応じて治療され得る条件には、脊髄障害、頭部外傷、および脳卒中等の脳血管疾患

のような機械的および外傷的障害を含む。化学療法あるいは他の治療から起因する末梢神経症も本発明の蛋白を用いて治療可能である。

本発明の蛋白は、例えば肺臓、肝臓、腸、腎臓、皮膚、内皮を含む臓器、平滑、骨格あるいは心臓筋肉、および血管内皮を含む血管組織のような他の組織を生成する活性、あるいはそのような組織を構成する細胞の増殖を促進する活性を示す可能性も期待される。望まれる効果の一部は、正常組織を再生させる纖維性瘢痕 (scarring) の阻害によっても担われると考えられる。

本発明の蛋白は、消化管保護あるいは再生、および肺あるいは肝臓の纖維化、様々な組織の再還流損傷、および全身性サイトカイン障害に起因する状態に対する治療にも有効であると考えられる。

#### [アクチビン/インヒビン活性]

本発明の蛋白は、アクチビン/インヒビンに関連した活性を示すと考えられる。アクチビンは漿胞刺激ホルモン (F S H) の放出を刺激する活性によって特徴づけられるが、インヒビンは、漿胞刺激ホルモン (F S H) の放出を阻害する活性によって特徴づけられる。よって、本発明の蛋白は、単独あるいはインヒビン  $\alpha$  ファミリーのメンバーとのヘテロダイマーで、哺乳類動物の雌の受精率を減少させ、雄の精子形成を減少させるインヒビンの活性に基づく避妊調節剤として有効であると考えられる。充分量の他のインヒビンの投与によって、哺乳動物の不妊を誘導可能である。一方、本発明の蛋白は、インヒビン  $\beta$  グループの他の蛋白サブユニットとのホモダイマーあるいはヘテロダイマーで、前脳下垂体の細胞から F S H 放出を刺激するアクチビン分子の活性に基づいた治療的な不妊誘導として有効であると考えられる (米国特許第 4,798,885 号を参照。)。本発明の蛋白は、牛、羊、および豚のような家畜の生涯出産能力可能な期間を延ばすために、性的に未熟なほ乳類動物における妊娠開始を早めることに有効であると考えられる。

#### [走化性/化学運動性活性]

本発明の蛋白は、例えば、単球、好中球、T細胞、マスト細胞、好酸球、および内皮細胞、あるいはそのいずれかを含む哺乳動物の細胞に対して、例えばケモカインとして働く走化性／化学運動性活性を有すると考えられる。走化性／化学運動性蛋白は、反応の望まれる部位へ、望まれる細胞集団を固定化あるいは引き寄せるため使用されることが可能である。走化性／化学運動性蛋白は、局所的な感染と同様に、創傷および他の外傷の治療に特別な優位性を提供する。例えば、リンパ球、単球、あるいは好中球を腫瘍あるいは感染部位へ引き寄せるることは、腫瘍あるいは感染部位に対する免疫応答を改善する結果となると考えられる。

蛋白やペプチドは、もしそれが直接あるいは間接に特殊な細胞集団に対して指示された方向あるいは運動を刺激可能であれば、そのような細胞集団に対する走化性活性を保持している。望ましくは、その蛋白やペプチドは、細胞の指示された運動を直接的に刺激する活性を保持する。特別な蛋白がある集団の細胞に対し走化性活性を保持するか否かは、既知のどのような細胞走化性のアッセイ法にそのような蛋白あるいはペプチドを使用しても容易に決定できる。

#### [凝血および血栓活性]

本発明の蛋白は、凝血あるいは血栓活性をも示すと考えられる。結果として、そのような蛋白は、様々な凝固障害（血友病のような遺伝性障害を含む）の治療に有効であると予期される。あるいは、外傷、手術あるいは他の原因により生じた創傷の治療における凝固および他の凝血事象を促進させることができると予期される。本発明の蛋白は、血栓の形成の溶解あるいは阻害、および血栓あるいは卒中等により生じる状態の治療および予防にも効果があると考えられる。

#### [受容体／リガンド活性]

本発明の蛋白は、受容体、受容体／リガンドあるいは受容体／リガンドの

インヒビターあるいはアゴニストとしての活性を示す可能性もある。そのような受容体およびリガンドの例として、サイトカイン受容体およびそのリガンド、受容体キナーゼおよびそのリガンド、受容体フォスファターゼおよびそのリガンド、細胞間相互作用に関連した受容体（セレクチン（Selectin）、イ  
5 ンテグリン（Integurin）およびそのリガンド、受容体キナーゼを含む細胞接着分子等）およびそのリガンド、および抗原提示、抗原認識、および細胞性および液性免疫反応の発達に係わる受容体／リガンドの組み合わせが挙げられるが、本発明を制限するものではない。受容体およびリガンドは、その相互作用に対する可能なペプチドあるいは小分子のインヒビターのスクリーニング  
10 グにも有効である。本発明の蛋白（受容体およびリガンドの断片を含むが、制限されるものではない）は、それ自身受容体／リガンドの相互作用のインヒビターとして有効であると考えられる。

#### [他の活性]

本発明の蛋白は、以下に示す付加的な活性あるいは効果の一つあるいはそれ以上を示すと考えられる：細菌、ウィルス、カビ、および他の寄生虫を含む感染性の物質を殺傷する；身長、体重、髪の色、目の色、肌あるいは他の組織の色素沈着、あるいは例えば胸部増量あるいは減量等の器官の大きさ等の身体的特徴を抑制あるいは促進する効果を及ぼす；食餌脂肪、蛋白、あるいは炭水化物の分解に効果を及ぼす；食欲、性欲、ストレス、認識（認識障害）、鬱病、暴力行動を含む行動特徴に効果を及ぼす；鎮痛効果あるいは他の痛みを減少させる効果を提供する；胚性幹細胞の造血系以外の他の系統への分化および増殖を促進する；および酵素の場合、その酵素の欠失を補い、また関連疾患を治療する。

上記活性を有する蛋白は、例えば、B細胞、T細胞、肥満細胞の増殖または細胞死、免疫グロブリンのクラススイッチ促進によるクラス特異的誘導、B細胞の抗体産生細胞への分化、顆粒球前駆細胞の増殖または分化、細胞死、

単球・マクロファージ前駆細胞の増殖または分化、細胞死、好中球、単球・マクロファージ、好酸球、好塩基球の増殖または機能亢進、細胞死、巨核球前駆細胞の増殖または細胞死、好中球前駆細胞の増殖または分化、細胞死、  
5 BまたはT前駆細胞の増殖または分化、細胞死、赤血球の産生促進、赤血球、好中球、好酸球、好塩基球、単球・マクロファージ、肥満細胞、巨核球前駆細胞の増殖支持、好中球、単球・マクロファージ、B細胞またはT細胞の遊走促進、胸腺細胞の増殖または細胞死、脂肪細胞の分化抑制、ナチュラルキラー細胞の増殖または細胞死、造血幹細胞の増殖または細胞死、幹細胞および各種造血前駆細胞の増殖抑制、間葉系幹細胞からの骨芽細胞、軟骨細胞へ  
10 の分化促進または増殖、細胞死、あるいは破骨細胞の活性化や単球から破骨細胞への分化促進による骨吸収の促進の作用を本ポリペプチドのみで、またリガンド-レセプター間の結合を介して、あるいは他の分子と相乗的に働くことにより有すると考えられる。

また本発明のペプチドは神経系にも作用することが予測されるので、各種  
15 神経伝達物質作動性神経細胞への分化ならびにそれらの生存維持または細胞死、グリア細胞の増殖促進または細胞死、神経突起の伸展、神経節細胞の生存維持または細胞死、アストロサイトの増殖または分化促進または細胞死、末梢神経の増殖または生存維持、細胞死、シュワン細胞の増殖または細胞死、運動神経の増殖または生存維持、細胞死の作用もあると考えられる。

20 さらに、本発明のポリペプチドは初期胚の発生過程において、外胚葉誘導作用による表皮、脳、背骨、神経の器官形成、中胚葉誘導作用による背索結合組織（骨、筋肉、腱）、血球細胞、心臓、腎臓、生殖巣の器官形成、あるいは内胚葉誘導作用による消化器系臓器（胃、腸、肝臓、脾臓）、呼吸器系（肺、気管）の形成に促進的または抑制的に作用すると考えられ、生体においても  
25 上記器官の増殖あるいは増殖抑制作用を有すると考えられる。

従って、本発明のポリペプチドはそれ自身で、免疫系または神経系もしく

は骨代謝の機能の低下または亢進に関する疾患、または造血系細胞の発育不全または異常増殖、例えば、炎症性疾患（リウマチ、潰瘍性大腸炎等）、骨髄移植後の造血幹細胞の減少症、ガン、白血病に対する放射線照射または化学療法剤投与後の白血球、血小板、B細胞またはT細胞の減少症、貧血、感染症、5 ガン、白血病、エイズ（AIDS）、骨代謝異常（骨粗鬆症等）、各種変性疾患（アルツハイマー病、多発性硬化症等）、あるいは神経損傷の予防または治療薬として用いることが期待される。

また本発明のポリペプチドは、外胚葉、中胚葉または内胚葉由来器官の分化または増殖作用を有すると考えられるので、各器官（表皮、骨、筋肉、腱、10 心臓、腎臓、胃、腸、肝臓、脾臓、肺、気管等）の組織修復剤として用いることも期待される。

また、本発明のポリペプチドのポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体を用いて、生体における該ポリペプチドの定量が行なえ、これによって該ポリペプチドと疾患との関係の研究あるいは疾患の診断等に利用することができる。ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体は該ポリペプチドあるいはその断片を抗原として用いて常法により作製することができる。

また本発明のポリペプチド（好ましくはその細胞外ドメインのポリペプチド）を用いることにより、例えばアフィニティーカラムを作製して、本発明のポリペプチドと結合する既知または未知の蛋白（リガンド）の同定、精製20 あるいはその遺伝子クローニングを行なうことができる。

また本発明のポリペプチド（好ましくはその膜貫通領域または細胞内ドメインのポリペプチド）を用いて、例えばウエストーウエスタン法により、または本発明のcDNA（好ましくは本発明のポリペプチドの膜貫通領域または細胞内ドメインをコードするcDNA）を用いて、例えば酵母2-ハイブリッド法により本発明のポリペプチドと細胞質内で相互作用する下流のシグナル伝達分子の同定、遺伝子クローニングを行なうこともできる。

さらに本発明のポリペプチドを用いることによって、本発明のポリペプチドレセプター・アゴニスト、アンタゴニストおよび受容体・シグナル伝達分子間の阻害剤等のスクリーニングを行なうこともできる。

本発明のcDNAは、多大な有用性が期待される本発明のポリペプチドを5 生産する際の重要な必須の鋳型となるだけでなく、遺伝病の診断や治療(遺伝子欠損症の治療またはアンチセンスDNA (RNA) によって、ポリペプチドの発現を停止させることによる治療等) に利用できる。また、本発明のcDNAをプローブとしてジェノミック (genomic) DNAを分離できる。同様にして、本発明cDNAと相同性の高いヒトの関連ポリペプチドの遺伝子、10 またマウス以外の生物における本発明ポリペプチドと相同性の高いポリペプチドの遺伝子を分離することも可能である。

#### [医薬品への適用]

前記の疾患に適応するために、本発明のポリペプチド、あるいは本発明のポリペプチドに対する抗体は通常、全身的又は局所的に、一般的には経口または非経口の形で投与される。好ましくは、経口投与、静脈内投与および脳室内投与である。

投与量は、年齢、体重、症状、治療効果、投与方法、処理時間等により異なるが、通常、成人一人あたり、一回につき、100  $\mu$ gから100mgの範囲で、一日一回から数回経口投与されるかまたは、成人一人あたり、一回につき、10  $\mu$ gから100mgの範囲で、一日一回から数回非経口投与される。

もちろん前記したように、投与量は種々の条件により変動するので、上記投与量より少ない量で十分な場合もあるし、また範囲を越えて必要な場合もある。

25 本発明化合物を投与する際には、経口投与のための固体組成物、液体組成物およびその他の組成物、非経口投与のための注射剤、外用剤、坐剤等とし

て用いられる。

経口投与のための固体組成物には、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤等が含まれる。カプセルには、ソフトカプセルおよびハードカプセルが含まれる。

5 このような固体組成物においては、一つまたはそれ以上の活性物質が、少なくとも一つの不活性な希釈剤（例えば、ラクトース、マンニトール、グルコース、ヒドロキシプロピルセルロース、微結晶セルロース、デンプン、ポリビニルピロリドン、メタケイ酸アルミニン酸マグネシウム等）と混合される。組成物は、常法に従って、不活性な希釈剤以外の添加物、例えば潤滑剤（ス

10 テアリン酸マグネシウム等）、崩壊剤（繊維素グリコール酸カルシウム等）、安定化剤（ヒト血清アルブミン、ラクトース等）、溶解補助剤（アルギニン、アスパラギン酸等）を含有していてもよい。

錠剤または丸剤は、必要により白糖、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート等の胃溶性あるいは腸溶性のフィルムで被膜してもよいし、また2以上の層で被膜してもよい。さらにゼラチンのような吸収されうる物質のカプセルも包含される。

経口投与のための液体組成物は、薬学的に許容される乳濁剤、溶液剤、懸濁剤、シロップ剤、エリキシル剤等を含み、一般に用いられる不活性な希釈剤（例えば、精製水、エタノール等）を含んでいてもよい。この様な組成物は、不活性な希釈剤以外に湿潤剤、懸濁剤のような補助剤、甘味剤、風味剤、芳香剤、防腐剤を含有していてもよい。

経口投与のためのその他の組成物としては、ひとつまたはそれ以上の活性物質を含み、それ自体公知の方法により処方されるスプレー剤が含まれる。この組成物は不活性な希釈剤以外に亜硫酸水素ナトリウムのような安定剤と等張性を与えるような安定化剤、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウムあるいはクエン酸のような等張剤を含有していてもよい。スプレー剤の製造方法

は、例えば米国特許第 2,868,691 号および同第 3,095,355 号明細書に詳しく記載されている。

本発明による非経口投与のための注射剤としては、無菌の水性または非水性の溶液剤、懸濁剤、乳濁剤を包含する。水性または非水性の溶液剤、懸濁

5 剤としては、一つまたはそれ以上の活性物質が、少なくとも一つの不活性な希釈剤と混合される。水性の希釈剤としては、例えば注射用蒸留水および生理食塩水が挙げられる。非水性の希釈剤としては、例えばプロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油のような植物油、エタノールのようなアルコール類、ポリソルベート 80（登録商標）等が挙げられる。

10 このような組成物は、さらに防腐剤、湿潤剤、乳化剤、分散剤、安定化剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ラクトース等）、溶解補助剤（例えば、アルギニン、アスパラギン酸等）のような補助剤を含んでいてもよい。

#### 発明を実施するための最良の形態

15 以下に本発明のクローン O C 0 0 1 に関する実施例を挙げて本発明をより具体的に説明するが、これらは本発明の範囲を制限するものではない。

#### 実施例 1 : p o l y (A) <sup>+</sup> RNA の調製

ヒト成人脳組織より T R I z o 1 試薬 (TRIzol reagent, 登録商標、GIBCOBRL 20 より販売) を用いて全 RNA を抽出し、mRNA ピュリフィケーション・キット (mRNA Purification Kit, 商品名、Pharmacia より販売) を用いて p o l y (A) <sup>+</sup> RNA を精製した。

#### 実施例 2 : 酵母 S S T c DNA ライブラリーの調製

25 上記の p o l y (A) <sup>+</sup> RNA を鋳型に X h o I 部位を連結したランダム 9 m e r : 5 ' - C G A T T G A A T T C T A G A C C T G C C T C G A G N

NNNNNNNN-3' (配列番号15) をプライマーとして、スーパースクリプト・プラスミド・システム (SuperScript Plasmid System for cDNA Synthesis and Plasmid Cloning, 商品名、GIBCOBRLより販売) を用いて2本鎖cDNAの合成を行なった。Eco RIアダプター (GIBCOBRLより販売) をDNA 5 ライゲーション・キットVer. 2 (DNA ligation kit ver.2, 商品名、宝酒造 (株) より販売。以下、cDNAの連結はすべて本キットを使用した。) を用いて連結した後、Xba Iで消化し、アガロース電気泳動で300~800 bpのcDNAを切り出して分画し、pSUC2 (米国特許第5536637号参照) のEco RI/Not I部位に連結し、大腸菌DH10B株にエレクト 10 ロポレーション法で形質転換して酵母SST用のcDNAライブラリーを得た。

#### 実施例3：SSTによるスクリーニングおよびSST陽性クローニングの塩基配列の決定

15 このcDNAライブラリーのプラスミドを調製し、酢酸リチウム法 (Current Protocols In Molecular Biology 13.7.1を参照) により酵母YTK12株を形質転換し、トリプトファン (Trp) を含まない酵母形質転換体の選択培地 (CMG-Trp培地) のプレート上にまき、30℃で48時間インキュベートした後、アキュトラン・レプリカ・プレーター (Accutran Replica Plater, 商品 20 名、Schleicher & Schuellより販売) を用いて得られたコロニー (形質転換体) のレプリカをラフィノースを炭素源とするYPDプレートにとり、30℃で14日間インキュベートした。3日目以降、出現してきた各々のコロニーを一つずつ再度YPDプレートにストリークして30℃で48時間インキュベートした後、シングルコロニーをYPD培地に植菌し、30℃で48時間インキュベートした後、プラスミドを調製した。続いてpSUC2のクローニングサイトの両端の配列の2種類のプライマー (センス鎖はビオチン化プラ

イマー)を用いて公知の方法に従ってPCRを行い、インサートcDNAを増幅した後、ダイナビーズ(Dynabeads, 商品名、DYNALより販売)を用いてビオチン化1本鎖cDNAを精製し、塩基配列の決定を行なった。塩基配列の決定はDNAシーケンシング・キット(DNA Sequencing kit(Dye Terminator 5 Cycle Sequencing Ready Reaction), 商品名、Applied Biosystems Inc.より販売)を用いた蛍光ダイターミネーターサイクルシークエンス法で反応を行い、自動DNAシークエンサー373(Applied Biosystems Inc.)で読み取りを行なつた(以下、塩基配列決定はすべて本方法で行なつた。)。

得られた塩基配列および推定されるアミノ酸配列についてデータベースとの相同意検索を行い、データベースに登録されていない新規のcDNAであることが明らかとなつたクローンについて、全長cDNAのクローニングを試みた。

実施例4：クローンOC001の全長cDNAのクローニングおよび塩基配列の決定 15

全長cDNAのクローニングはマラソンcDNAアンプリフィケーション・キット(Marathon cDNA Amplification Kit, 商品名、Clontech社より販売)による3'RACE(Rapid Amplification of cDNA End)法を用いて行なつた。2本鎖cDNAを調製には、各クローンの由来、すなわちヒト成人脳組織のpol y(A)<sup>+</sup>RNAより作製した。SSTで得られた塩基配列の情報に基づいて推定翻訳開始点ATG領域より上流の27merのプライマーOC001-F1: 5'-GTCCTTCAGCAAAACAGTGGATTTA AA-3' (配列番号16)を作製して、該キットに添付されたアダプタープライマーとでPCRを行なつた。クローンOC001に特異的に増幅されたcDNAをアガロース電気泳動で分画後、pT7Blue-2T-Vector(商品名、Novagenより販売)に連結し、大腸菌DH5 $\alpha$ に形質転換してプラス

ミドを調製した。初めに 5' 側の塩基配列を決定して O C 0 0 1 S S T c DNA の塩基配列が存在することを確認した後、全塩基配列を決定し、配列番号 3 に示す配列を得た。さらにオープンリーディングフレームを決定し、アミノ酸に翻訳して配列番号 1、2、4 および 5 に示す配列を得た。

5 核酸配列データベースに登録されている既知の核酸配列に対して BLASTN および FASTA により、またアミノ酸配列データベースに登録されている既知のポリペプチドのアミノ酸配列に対して BLASTX、BLASTP および FASTA により検索した結果、本発明のポリペプチド O C 0 0 1 およびそれをコードする核酸配列と一致する配列はなかった。さらに得られたアミノ酸配列の疎水性プロットによる解析から本発明のポリペプチドには C 末端に膜貫通領域が存在し G P I アンカー型であることが予想された。これらのことから、本発明のポリペプチドは、新規の膜蛋白質であることが判明した。さらに相同性検索の結果、BLASTX、BLASTP および FASTA は、クローン O C 0 0 1 (配列番号 1 のアミノ酸配列 1 2 ~ 3 4 4 間の領域) とニューロトリミン (neurotrimin[Rattus norvegicus]) (Genbank Accession U16845 のアミノ酸配列 9 ~ 3 4 4 間の領域) およびオピオイド結合細胞接着因子 (opioid-binding cell adhesion molecule[Homo sapiens]) (Genbank Accession L 3 4 7 7 4 のアミノ酸配列 9 ~ 3 4 5 間の領域) との間に有為な相同性があることを示した。これらの相同性に基づいて、クローン O C 0 0 1 は、少なくともニューロトリミン (neurotrimin) およびオピオイド結合細胞接着因子 (opioid-binding cell adhesion molecule) が属する神経細胞接着因子ファミリーと同様な活性を保持すると期待される。

実施例 5：クローン O M 2 3 7 の全長 c DNA のクローニングおよび塩基配列の決定

本発明のクローン O M 2 3 7 に関する実施例は、O C 0 0 1 と同様な手法

を用いたが、以下の点のみ異なる。

全長cDNAのクローニングはマラソンcDNAアンプリフィケーション・キット (Marathon cDNA Amplification Kit, 商品名、Clontech社より販売)による3'RACE法を用いて、OC001と同様の方法で行なった。2本  
5 鎮cDNAを調製には、各クローンの由来、すなわちヒト成人脳組織のp0  
1y (A)<sup>+</sup>RNAをより作製した。SSTで得られた塩基配列の情報に基づ  
いて推定翻訳開始点ATG領域より上流の27merのプライマーOM23  
7-F1: 5'-CCAGAAAGCACAGCCCTGATTCTGCG  
T-3' (配列番号17) を作製して、該キットに添付されたアダプタープ  
10 ライマーとでPCRを行なった。クローンOM237に特異的に増幅された  
cDNAを、OC001と同様な手法でリクローニングし、全塩基配列を決  
定し、配列番号8に示す配列を得た。さらにオープンリーディングフレーム  
を決定し、アミノ酸に翻訳して配列番号6および7に示す配列を得た。

核酸配列データベースに登録されている既知の核酸配列に対して BLASTN  
15 および FASTA により、またアミノ酸配列データベースに登録されている既知  
のポリペプチドのアミノ酸配列に対して BLASTX、BLASTP および FASTA に  
より検索した結果、本発明のポリペプチドOM237およびそれをコードす  
る核酸配列と一致する配列はなかった。さらに得られたアミノ酸配列の疎水  
性プロットによる解析から本発明のポリペプチドには膜貫通領域が存在する  
20 ことが予想された。これらのことから、本発明のポリペプチドは、新規の膜  
蛋白質であることが判明した。

実施例6：クローンOA004bの全長cDNAのクローニングおよび塩基  
配列の決定

25 本発明のクローンOA004bに関する実施例は、OC001と同様な手  
法を用いたが、以下の点のみ異なる。

[poly (A)<sup>+</sup>RNAの調製]

ヒトグリア芽腫細胞株T 9 8 G (ATCC No.CRL-1690) より TRIzol reagent (登録商標、GIBCOBRL より販売) を用いて全RNAを抽出し、mRNAピュリフィケーション・キット (mRNA Purification Kit, 商品名、Pharmacia より販売) を用いてpoly (A)<sup>+</sup>RNAを精製した。

## [全長cDNAのクローニングおよび塩基配列の決定]

全長cDNAのクローニングはジントラッパー cDNA Positive Selection System (GIBCOBRL) を用いて行なった。まずスーパースクリプト・プラスミド・システム (SuperScript Plasmid System for cDNA Synthesis and Plasmid Cloning, 商品名、GIBCOBRL) を用いてヒトグリア芽腫細胞株T 9 8 Gのpoly (A)<sup>+</sup>RNAよりプラスミド pSPORT1 (GIBCOBRL) をベクターとして dT-primed cDNAライブラリーを作製した。つぎにSSTで得られた塩基配列の情報に基づいて 27mer のビオチン化プライマー OA004-F1 : 5'-ビオチン-ATGCACATCTTCAAGCATGCTCAG-3' (配列番号 18) を作製した後、ジントラッパー (GeneTrapper) キットの方法にしたがってビオチン化プライマーと特異的にハイブリダイズするプラスミドを上記のcDNAライブラリーから回収し、大腸菌DH10Bに形質転換した。さらにランダムプライマー-DNAラベリングキット (Random Primer DNA Labeling kit, 商品名、宝酒造より販売) を用いて<sup>32</sup>P-dCTP でラベルしたOA004 SST cDNAをプローブとして、公知の方法によりコロニーハイブリダイゼーションを行い、陽性クローンを単離して、プラスミドを調製した。全塩基配列を決定し、配列番号 11 に示す配列を得たので、それぞれOA004bと名付けた。さらにオープンリーディングフレームを決定し、アミノ酸に翻訳して配列番号 9 および 10 に示す配列を得た。

核酸配列データベースに登録されている既知の核酸配列に対して BLASTN

およびFASTAにより、またアミノ酸配列データベースに登録されている既知のポリペプチドのアミノ酸配列に対してBLASTX、BLASTPおよびFASTAにより検索した結果、本発明のポリペプチドOA004bおよびそれをコードする核酸配列と一致する配列はなかった。さらに得られたアミノ酸配列の疎水性プロットによる解析から本発明のポリペプチドには膜貫通領域が存在することが予想された。これらのことから、本発明のポリペプチドは、新規の膜蛋白質であることが判明した。しかし、相同性検索の結果、BLASTX、BLASTPおよびFASTAは、クローンOA004b（配列番号9のアミノ酸配列171～311間の領域）と52.8kD蛋白質（Hypothetical 52.8kD protein[Caenorhabditis elegans]）（SwissProt Accession YJ95\_CAEELのアミノ酸配列299～453間の領域）の間に有意な相同性があることを示した。また、クローンOA004b（配列番号9のアミノ酸配列194～277間の領域）とプレセニリン-2（presenilin-2[Homo sapiens]）（Genbank Accession A56993のアミノ酸配列340～416間の領域）の間にも有為と考えられる相同性があることを示した。これらの相同性に基づいて、クローンOA004bは、少なくともプレセニリン（presenilin）ファミリーと同様な活性を保持すると期待される。

実施例7：クローンOAF075bの全長cDNAのクローニングおよび塩基配列の決定

本発明のクローンOAF075bに関する実施例は、OC001と同様な手法を用いたが、以下の点のみ異なる。

[poly(A)<sup>+</sup>RNAの調製]

ヒト骨髄ストローマ細胞株HAS303（東京医科大学第一内科外山圭助教授、相沢信助手より供与）よりTRIZol試薬（登録商標、GIBCOBRLより販売）を用いて全RNAを抽出し、mRNAピュリフィケーション・キ

ット (mRNA Purification Kit, 商品名、Pharmacia より販売) を用いて p o 1 y (A) + RNA を精製した。

[全長 c DNA のクローニングおよび塩基配列の決定]

全長 c DNA のクローニングはマラソン c DNA アンプリフィケーション・キット (Marathon cDNA Amplification Kit, 商品名、Clontech 社より販売) による 3' RACE 法を用いて、O C 0 0 1 と同様の方法で行なった。2 本鎖 c DNA を調製には、各クローンの由来、すなわち H A S 3 0 3 の p o 1 y (A) + RNA より作製した。S S T で得られた塩基配列の情報に基づいて推定翻訳開始点 A T G 領域を含む 2 7 m e r のプライマー O A F 0 7 5 - F 10 1 : 5' - C C C C G G G G A C A T G A G G T G G A T A C T G T T - 3' (配列番号 1 9) を作製して、該キットに添付されたアダプタープライマーとで P C R を行なった。クローン O A F 0 7 5 B に特異的に増幅された c DNA を O C 0 0 1 と同様な手法でリクローニングし、全塩基配列を決定し、配列番号 1 4 に示す配列を得たので、O A F 0 7 5 b と名付けた。さらにオーブンリーディングフレームを決定し、アミノ酸に翻訳して配列番号 1 2 および 1 3 に示す配列を得た。

核酸配列データベースに登録されている既知の核酸配列に対して BLASTN および FASTA により、またアミノ酸配列データベースに登録されている既知のポリペプチドのアミノ酸配列に対して BLASTX、BLASTP および FASTA により検索した結果、本発明のポリペプチド O A F 0 7 5 b、およびそれをコードする核酸配列と一致する配列はなかった。

さらに得られたアミノ酸配列の疎水性プロットによる解析から本発明のポリペプチドには膜貫通領域が存在しないことが予想された。これらのことから、本発明のポリペプチドは、新規の分泌蛋白質であることが判明した。さらに相同性検索の結果、BLASTX、BLASTP および FASTA は、クローン O A F 0 7 5 b (配列番号 1 2 のアミノ酸配列 1 ~ 3 5 9 間の領域) とプレプロ

カルボキシペプチダーゼA 2 (preprocarboxypeptidase A2[Homo sapiens])  
(Genbank Accession U19977 のアミノ酸配列 1 ~ 355 間の領域) の間に有為  
な相同性があることを示し、カルボキシペプチダーゼA ファミリーであると  
考えられた。これらの相同性に基づいて、クローンOAF 075 bは、少な  
5 くとも上記のプレプロカルボキシペプチダーゼA 2 (preprocarboxypeptidase  
A2[Homo sapiens]) と同様な活性を保持すると期待される。

## 請求の範囲

1. 実質的に純粋な形である配列番号1、4、6、9または12で示されるアミノ酸配列からなるポリペプチド、そのホモローグ、そのフラグメントまたはそのフラグメントのホモローグからなるポリペプチド。
2. 配列番号1、4、6、9または12で示されるアミノ酸配列からなる請求の範囲第1項記載のポリペプチド。
- 10 3. 請求の範囲第1項に記載されたポリペプチドをコードするcDNA。
4. 配列番号2、5、7、10または13で示される塩基配列からなる請求の範囲第3項記載のcDNA、またはその配列に選択的にハイブリダイズするフラグメントからなるcDNA。
- 15 5. 配列番号3、8、11または14で示される塩基配列からなる請求の範囲第3項記載のcDNA、またはその配列に選択的にハイブリダイズするフラグメントからなるcDNA。
- 20 6. 請求の範囲第3項から第5項のいずれかの項に記載のcDNAからなる複製または発現ベクター。
7. 請求の範囲第6項記載の複製または発現ベクターで形質転換された宿主細胞。
- 25 8. 請求の範囲第1項または第2項に記載されたポリペプチドを発現させる

ための条件下で請求の範囲第7項記載の宿主細胞を培養することからなる該  
ポリペプチドの製造方法。

9. 請求の範囲第1項または第2項に記載されたポリペプチドのモノクロー<sup>5</sup>  
ナルまたはポリクローナル抗体。

10. 請求の範囲第1項または第2項に記載されたポリペプチドまたは請求  
の範囲第9項記載の抗体および薬学的に許容される賦形剤および／または担  
体を含有することを特徴とする薬学的組成物。

## SEQUENCE LISTING

<110> Ono Pharmaceutical Co., Ltd.

<120> Novel Polypeptides, cDNA coding these polypeptides and Use thereof

<130> ONF-2975PCT

<141> 1999-05-13

<150> JP 10-131815

<151> 1998-05-14

<160> 19

<170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 344

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Lys Thr Ile Gln Pro Lys Met His Asn Ser Ile Ser Trp Ala Ile

-25

-20

-15

Phe Thr Gly Leu Ala Ala Leu Cys Leu Phe Gln Gly Val Pro Val Arg  
-10 -5 -1 1

Ser Gly Asp Ala Thr Phe Pro Lys Ala Met Asp Asn Val Thr Val Arg  
5 10 15 20

Gln Gly Glu Ser Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ile Asp Asn Arg Val Thr  
25 30 35

Arg Val Ala Trp Leu Asn Arg Ser Thr Ile Leu Tyr Ala Gly Asn Asp  
40 45 50

Lys Trp Cys Leu Asp Pro Arg Val Val Leu Leu Ser Asn Thr Gln Thr  
55 60 65

Gln Tyr Ser Ile Glu Ile Gln Asn Val Asp Val Tyr Asp Glu Gly Pro  
70 75 80

Tyr Thr Cys Ser Val Gln Thr Asp Asn His Pro Lys Thr Ser Arg Val  
85 90 95 100

His Leu Ile Val Gln Val Ser Pro Lys Ile Val Glu Ile Ser Ser Asp  
105 110 115

Ile Ser Ile Asn Glu Gly Asn Asn Ile Ser Leu Thr Cys Ile Ala Thr  
120 125 130

Gly Arg Pro Glu Pro Thr Val Thr Trp Arg His Ile Ser Pro Lys Ala  
135 140 145

Val Gly Phe Val Ser Glu Asp Glu Tyr Leu Glu Ile Gln Gly Ile Thr  
150 155 160

Arg Glu Gln Ser Gly Asp Tyr Glu Cys Ser Ala Ser Asn Asp Val Ala  
165 170 175 180

Ala Pro Val Val Arg Arg Val Lys Val Thr Val Asn Tyr Pro Pro Tyr

185 190 195

Ile Ser Glu Ala Lys Gly Thr Gly Val Pro Val Gly Gln Lys Gly Thr

200 205 210

Leu Gln Cys Glu Ala Ser Ala Val Pro Ser Ala Glu Phe Gln Trp Tyr

215 220 225

Lys Asp Asp Lys Arg Leu Ile Glu Gly Lys Lys Gly Val Lys Val Glu

230 235 240

Asn Arg Pro Phe Leu Ser Lys Leu Ile Phe Phe Asn Val Ser Glu His

245 250 255 260

Asp Tyr Gly Asn Tyr Thr Cys Val Ala Ser Asn Lys Leu Gly His Thr

265 270 275

Asn Ala Ser Ile Met Leu Phe Gly Pro Gly Ala Val Ser Glu Val Ser

280 285 290

Asn Gly Thr Ser Arg Arg Ala Gly Cys Val Trp Leu Leu Pro Leu Leu

295 300 305

Val Leu His Leu Leu Leu Lys Phe

310 315

<210> 2

<211> 1032

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

atgaaaacca tccagccaaa aatgcacaat tctatctttt gggcaatctt cacggggctg 60  
gctgccttgt gtcctttcca aggagtgccc gtgcgcagcg gagatgccac ctccccaaa 120  
gctatggaca acgtgacggt ccggcagggg gagagcgcca ccctcagggt cactattgac 180  
aaccgggtca cccgggtggc ctggctaaac cgcatcacca tccctatgc tggaaatgac 240  
aagtggtgcc tggatccctcg cgtggccctt ctgagcaaca cccaaacgca gtacagcatc 300  
gagatccaga acgtggatgt gtaigacgag ggcccttaca cctgctcggt gcagacagac 360  
aaccacccaa agacctctag ggccaccctc attggcaag tattcccaa aattgttagag 420  
attttttcag atatctccat taatgaaggg aacaatatta gcctcacctg catagcaact 480  
ggtagaccag agccctacggt tacttggaga cacaatctc ccaaagcggt tggcttgg 540  
agtgaagacg aatacttggaa aattcagggc atcacccggg agcagtctgg ggactacgag 600  
tgcagtgcct ccaatgacgt ggccgcgccc gtggtacgga gatggaaatgggtt caccgtgaac 660  
tatccaccat acatttcaga agccaagggt acagggttcc ccgtgggaca aaaggggaca 720  
ctgcagtgtg aaggctcagc agtccccca gcagaattcc agtggtaacaa ggtatgacaaa 780  
agactgattt aaggaaagaa aggggtgaaa gtggaaaaca gacctttctt ctcaaaactc 840  
atcttttca atgtctctga acatgactat gggactaca ctgcgtggc ctccaacaag 900  
ctggccaca ccaatgccag catcatgcctt tttggccatgg ggcgcgttcc cgagggttggc 960  
aacggcacgt cgaggagggc aggctgcgtc tggctgcgtc ctcttctgggt ctgcaccc 1020  
cttctcaaat tt 1032

<210> 3

<211> 1693

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone 0C001 derived from human brain

<220>

<221> CDS

<222> (130).. (1161)

<220>

<221> sig\_peptide

<222> (130).. (213)

<220>

<221> mat\_peptide

<222> (214).. (1161)

<400> 3

gtccttcagc aaaacagtgg atttaaatct ccttgcacaa gcttgagagc aacacaatct 60

atcaggaaag aaagaaaagaa aaaaaaccga acctgacaaa aaagaagaaa aagaagaaga 120

aaaaaaaaatc atg aaa acc atc cag cca aaa atg cac aat tct atc tct tgg 171

Met Lys Thr Ile Gln Pro Lys Met His Asn Ser Ile Ser Trp

-25

-20

-15

gca atc ttc acg ggg ctg gct gct ctg tgt ctc ttc caa gga gtg ccc 219  
Ala Ile Phe Thr Gly Leu Ala Ala Leu Cys Leu Phe Gln Gly Val Pro  
-10 -5 -1 1  
gtg cgc agc gga gat gcc acc ttc ccc aaa gct atg gac aac gtg acg 267  
Val Arg Ser Gly Asp Ala Thr Phe Pro Lys Ala Met Asp Asn Val Thr  
5 10 15  
gtc cgg cag ggg gag agc gcc acc ctc agg tgc act att gac aac cgg 315  
Val Arg Gln Gly Glu Ser Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ile Asp Asn Arg  
20 25 30  
gtc acc cgg gtg gcc tgg cta aac cgc agc acc atc ctc tat gct ggg 363  
Val Thr Arg Val Ala Trp Leu Asn Arg Ser Thr Ile Leu Tyr Ala Gly  
35 40 45 50  
aat gac aag tgg tgc ctg gat cct cgc gtg gtc ctt ctg agc aac acc 411  
Asn Asp Lys Trp Cys Leu Asp Pro Arg Val Val Leu Leu Ser Asn Thr  
55 60 65  
caa acg cag tac agc atc gag atc cag aac gtg gat gtg tat gac gag 459  
Gln Thr Gln Tyr Ser Ile Glu Ile Gln Asn Val Asp Val Tyr Asp Glu  
70 75 80  
ggc cct tac acc tgc tcg gtg cag aca gac aac cac cca aag acc tct 507  
Gly Pro Tyr Thr Cys Ser Val Gln Thr Asp Asn His Pro Lys Thr Ser  
85 90 95  
agg gtc cac ctc att gtg caa gta tct ccc aaa att gta gag att tct 555  
Arg Val His Leu Ile Val Gln Val Ser Pro Lys Ile Val Glu Ile Ser  
100 105 110

tca gat atc tcc att aat gaa ggg aac aat att agc ctc acc tgc ata 603  
Ser Asp Ile Ser Ile Asn Glu Gly Asn Asn Ile Ser Leu Thr Cys Ile  
115 120 125 130  
gca act ggt aga cca gag cct acg gtt act tgg aga cac atc tct ccc 651  
Ala Thr Gly Arg Pro Glu Pro Thr Val Thr Trp Arg His Ile Ser Pro  
135 140 145  
aaa gcg gtt ggc ttt gtg agt gaa gac gaa tac ttg gaa att cag ggc 699  
Lys Ala Val Gly Phe Val Ser Glu Asp Glu Tyr Leu Glu Ile Gln Gly  
150 155 160  
atc acc cgg gag cag tca ggg gac tac gag tgc agt gcc tcc aat gac 747  
Ile Thr Arg Glu Gln Ser Gly Asp Tyr Glu Cys Ser Ala Ser Asn Asp  
165 170 175  
gtg gcc gcg ccc gtg gta cgg aga gta aag gtc acc gtg aac tat cca 795  
Val Ala Ala Pro Val Val Arg Arg Val Lys Val Thr Val Asn Tyr Pro  
180 185 190  
cca tac att tca gaa gcc aag ggt aca ggt gtc ccc gtg gga caa aag 843  
Pro Tyr Ile Ser Glu Ala Lys Gly Thr Gly Val Pro Val Gly Gln Lys  
195 200 205 210  
ggg aca ctg cag tgt gaa gcc tca gca gtc ccc tca gca gaa ttc cag 891  
Gly Thr Leu Gln Cys Glu Ala Ser Ala Val Pro Ser Ala Glu Phe Gln  
215 220 225  
tgg tac aag gat gac aaa aga ctg att gaa gga aag aaa ggg gtg aaa 939  
Trp Tyr Lys Asp Asp Lys Arg Leu Ile Glu Gly Lys Lys Gly Val Lys  
230 235 240

gtg gaa aac aga cct ttc ctc tca aaa ctc atc ttc ttc aat gtc tct 987  
 Val Glu Asn Arg Pro Phe Leu Ser Lys Leu Ile Phe Phe Asn Val Ser  
 245 250 255  
 gaa cat gac tat ggg aac tac act tgc gtg gcc tcc aac aag ctg ggc 1035  
 Glu His Asp Tyr Gly Asn Tyr Thr Cys Val Ala Ser Asn Lys Leu Gly  
 260 265 270  
 cac acc aat gcc agc atc atg cta ttt ggt cca ggc gcc gtc agc gag 1083  
 His Thr Asn Ala Ser Ile Met Leu Phe Gly Pro Gly Ala Val Ser Glu  
 275 280 285 290  
 gtg agc aac ggc acg tcg agg agg gca ggc tgc gtc tgg ctg ctg cct 1131  
 Val Ser Asn Gly Thr Ser Arg Arg Ala Gly Cys Val Trp Leu Leu Pro  
 295 300 305  
 ctt ctg gtc ttg cac ctg ctt ctc aaa ttt tgatgtgagt gccacttccc 1181  
 Leu Leu Val Leu His Leu Leu Leu Lys Phe  
 310 315  
 cacccgggaa aggctggc caccaccacc accaacaaca cagcaatggc aacaccgaca 1241  
 gcaaccaatc agatataatac aaatgaatatt agaagaaaca cagcctcatg ggacagaaat 1301  
 ttgagggagg ggaacaaaga atactttggg gggaaaaaaag tttaaaaaaa gaaatgtaaa 1361  
 attgccttgc agataatttag gtacaatggc gttttttttt cccaaacggg aagaacacag 1421  
 cacacccggc ttggacccac tgcaagctgc atcgtgcaac ctctttggtg ccagtgtggg 1481  
 caagggctca gcccctctgc ccacagatgtg ccccacgtg gaacattctg gagctggcca 1541  
 tcccaaattc aatcagtcac tagagacgaa cagaatgaga ctttcggcc caagcgtggc 1601  
 gctgcggcata ctttggtaga ctgtgccacc acggcgtgtg tttgtaaaacg tttaaaataaaa 1661  
 agagcaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 1693

〈210〉 4

〈211〉 313

〈212〉 PRT

〈213〉 *Homo sapiens*

〈400〉 4

Arg Ser Gly Asp Ala Thr Phe Pro Lys Ala Met Asp Asn Val Thr Val

1 5 10 15

Arg Gln Gly Glu Ser Ala Thr Leu Arg Cys Thr Ile Asp Asn Arg Val

20 25 30

Thr Arg Val Ala Trp Leu Asn Arg Ser Thr Ile Leu Tyr Ala Gly Asn

35 40 45

Asp Lys Trp Cys Leu Asp Pro Arg Val Val Leu Leu Ser Asn Thr Gln

50 55 60

Thr Gln Tyr Ser Ile Glu Ile Gln Asn Val Asp Val Tyr Asp Glu Gly

65 70 75 80

Pro Tyr Thr Cys Ser Val Gln Thr Asp Asn His Pro Lys Thr Ser Arg

85 90 95

Val His Leu Ile Val Gln Val Ser Pro Lys Ile Val Glu Ile Ser Ser

100 105 110

Asp Ile Ser Ile Asn Glu Gly Asn Asn Ile Ser Leu Thr Cys Ile Ala

115 120 125

Thr Gly Arg Pro Glu Pro Thr Val Thr Trp Arg His Ile Ser Pro Lys  
130 135 140

Ala Val Gly Phe Val Ser Glu Asp Glu Tyr Leu Glu Ile Gln Gly Ile  
145 150 155 160

Thr Arg Glu Gln Ser Gly Asp Tyr Glu Cys Ser Ala Ser Asn Asp Val  
165 170 175

Ala Ala Pro Val Val Arg Arg Val Lys Val Thr Val Asn Tyr Pro Pro  
180 185 190

Tyr Ile Ser Glu Ala Lys Gly Thr Gly Val Pro Val Gly Gln Lys Gly  
195 200 205

Thr Leu Gln Cys Glu Ala Ser Ala Val Pro Ser Ala Glu Phe Gln Trp  
210 215 220

Tyr Lys Asp Asp Lys Arg Leu Ile Glu Gly Lys Lys Gly Val Lys Val  
225 230 235 240

Glu Asn Arg Pro Phe Leu Ser Lys Leu Ile Phe Phe Asn Val Ser Glu  
245 250 255

His Asp Tyr Gly Asn Tyr Thr Cys Val Ala Ser Asn Lys Leu Gly His  
260 265 270

Thr Asn Ala Ser Ile Met Leu Phe Gly Pro Gly Ala Val Ser Glu Val  
275 280 285

Ser Asn Gly Thr Ser Arg Arg Ala Gly Cys Val Trp Leu Leu Pro Leu  
290 295 300

Leu Val Leu His Leu Leu Leu Lys Phe  
305 310

〈210〉 5

211 939

〈212〉 DNA

〈213〉 *Homo sapiens*

<400> 5

cgcagcggag atgccaccc ccccaaagct atggacaacg tgacggcccg gcagggggag 60  
agcgccaccc tcaggtgcac tattgacaac cgggtcaccc gggtggccctg gctaaaccgc 120  
agcaccatcc tctatgctgg gaatgacaag tggtgccctgg atccctcgctg ggcccttctg 180  
agcaacacccc aaacgcagta cagcatcgag atccagaacg tggatgtgtia tgacgaggc 240  
ccttacacct gctcggtgca gacagacaac cacccaaaga ccctctagggt ccacctcatt 300  
gtgcaagtat ctcccaaaat tggtagagatt tcitcagata tcitccattaa tgaagggAAC 360  
aatatttagcc tcacctgcat agcaactggt agaccagagc ctacggttac tggagacac 420  
atctctccca aagcgggtgg cttagtgagt gaagacgaat acttggaaat tcagggcatc 480  
accggggagc agtcaggggta ctacgagtgcc agtgcctcca atgacgtggc cgcccccgtg 540  
gtacggagag taaaggtcac cgtgaactat ccaccataca ttccagaagc caagggtaca 600  
ggtgtccccg tgggacaaaa ggggacactg cagtgtaag cctcagcagt cccctcagca 660  
gaattccagt ggtacaagga tgacaaaaga ctgtatgtaa gaaagaaaagg gggttttttg 720  
aaaaacagac ctcccttc aaaacatc ttcataatg tcitcgaaca tgactatggg 780  
aactacactt gcgtggccctc caacaagctg ggccacacca atgcccgtatc catgtttttt 840  
ggtccaggcg ccgtcagcga ggttttttttggccatc ggcacgtcga ggagggcagg ctgcgtctgg 900  
ctgcgtccctc ttttttttttgcacccatc ttttttttttgcacccatc 939

<210> 6

<211> 478

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Met Phe Lys Phe His Gln Met Lys His Ile Phe Glu Ile Leu Asp Lys

1 5 10 15

Met Arg Cys Leu Arg Lys Arg Ser Thr Val Ser Phe Leu Gly Val Leu

20 25 30

Val Ile Phe Leu Leu Phe Met Asn Leu Tyr Ile Glu Asp Ser Tyr Val

35 40 45

Leu Glu Gly Asp Lys Gln Leu Ile Arg Glu Thr Ser Thr His Gln Leu

50 55 60

Asn Ser Glu Arg Tyr Val His Thr Phe Lys Asp Leu Ser Asn Phe Ser

65 70 75 80

Gly Ala Ile Asn Val Thr Tyr Arg Tyr Leu Ala Ala Thr Pro Leu Gln

85 90 95

Arg Lys Arg Tyr Leu Thr Ile Gly Leu Ser Ser Val Lys Arg Lys Lys

100 105 110

Gly Asn Tyr Leu Leu Glu Thr Ile Lys Ser Ile Phe Glu Gln Ser Ser

115 120 125

Tyr Glu Glu Leu Lys Glu Ile Ser Val Val Ile His Leu Ala Asp Phe  
130 135 140

Asn Ser Ser Trp Arg Asp Ala Met Val Gln Asp Ile Thr Gln Lys Phe  
145 150 155 160

Ala His His Ile Ile Ala Gly Arg Leu Met Val Ile His Ala Pro Glu  
165 170 175

Glu Tyr Tyr Pro Ile Leu Asp Gly Leu Lys Arg Asn Tyr Asn Asp Pro  
180 185 190

Glu Asp Arg Val Lys Phe Arg Ser Lys Gln Asn Val Asp Tyr Thr Phe  
195 200 205

Leu Leu Asn Phe Cys Ala Asn Thr Ser Asp Tyr Tyr Val Met Leu Glu  
210 215 220

Asp Asp Val Arg Cys Ser Lys Asn Phe Leu Thr Ala Ile Lys Lys Val  
225 230 235 240

Ile Ala Ser Leu Glu Gly Thr Tyr Trp Val Thr Leu Glu Phe Ser Lys  
245 250 255

Leu Gly Tyr Ile Gly Lys Leu Tyr His Ser His Asp Leu Pro Arg Leu  
260 265 270

Ala His Phe Leu Leu Met Phe Tyr Gln Glu Met Pro Cys Asp Trp Leu  
275 280 285

Leu Thr His Phe Arg Gly Leu Leu Ala Gln Lys Asn Val Ile Arg Phe  
290 295 300

Lys Pro Ser Leu Phe Gln His Met Gly Tyr Tyr Ser Ser Tyr Lys Gly  
305 310 315 320

Thr Glu Asn Lys Leu Lys Asp Asp Asp Phe Glu Glu Glu Ser Phe Asp  
325 330 335

Ile Pro Asp Asn Pro Pro Ala Ser Leu Tyr Thr Asn Met Asn Val Phe  
340 345 350

Glu Asn Tyr Glu Ala Ser Lys Ala Tyr Ser Ser Val Asp Glu Tyr Phe  
355 360 365

Trp Gly Lys Pro Pro Ser Thr Gly Asp Val Phe Val Ile Val Phe Glu  
370 375 380

Asn Pro Ile Ile Ile Lys Lys Ile Lys Val Asn Thr Gly Thr Glu Asp  
385 390 395 400

Arg Gln Asn Asp Ile Leu His His Gly Ala Leu Asp Val Gly Glu Asn  
405 410 415

Val Met Pro Ser Lys Gln Arg Gly Gln Cys Ser Thr Tyr Leu Arg Leu  
420 425 430

Gly Glu Phe Lys Asn Gly Asn Phe Glu Met Ser Gly Val Asn Gln Lys  
435 440 445

Ile Pro Phe Asp Ile His Cys Met Arg Ile Tyr Val Thr Lys Thr Gln  
450 455 460

Lys Glu Trp Leu Ile Ile Arg Ser Ile Ser Ile Trp Thr Ser  
465 470 475

&lt;210&gt; 7

&lt;211&gt; 1434

〈212〉 DNA

〈213〉 Homo sapiens

〈400〉 7

atgtttaaat ttcatcaaatt gaaacatatt ttgaaatac ttgataaaat gagatgcctg 60  
agaaaacgtt ctacagtgtc attcttggga gttcttgtca ttttctctt ttttatgaac 120  
ttgtacatgt aagatagctt tttctggaa ggagacaaac aacttataag gaaacatcc 180  
acacatcaac tgaattcaga acgtatgtt catacttca aggatttac taatttctca 240  
ggagccataa atgtcaccctt tcgttaccta gctgccacac ctttacaaag aaagcggtat 300  
cttacaatgt gactttttt cgtttaaggcga aaaaaaggaa acttattttt tttttttttt 360  
aagtcaattt tttagcaatc cagctatgaa gagcttgaagg aaattttttt cttttttttt 420  
cttagcagact ttaattttttt cttttttttt gttttttttt aggttattttt acagaaattt 480  
gcgcaccata ttattttttt cttttttttt gttttttttt cttttttttt gtattttttt 540  
atccttagatg gctttttttt aaattttttt gatccagaag atagatgtttt atttttttttt 600  
aagcaaaaatgt tagattttttt tttttttttt aatttttttt cttttttttt agactttttt 660  
gtttttttttt aagatgtttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 720  
atttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 780  
gtttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 840  
caagaaaatgtt cttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 900  
gtttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 960  
acggagaata agcigaagga tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1020  
ccccctgttcaaa gttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1080  
tacagtagtg tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1140  
attttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 1200

cggcaaaatg atattttgc a tcatggagcc cttagatgttg gggaaaacgt tatgcctagc 1260  
aaacaaaaggg gacaatgttc tacttactta agactaggag aattcaaaaa tggaaacttt 1320  
gaaaatgtcag gtgttaaatca aaaaattcca tttagataac attgtatgag gatataatgtc 1380  
accaaaaacac aaaaggaatg gctaattattt aggagtttta gcattttggac ttct 1434

<210> 8

<211> 2131

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone OM237 derived from human brain

<220>

<221> CDS

<222> (114)..(1547)

<400> 8

ccagaaaagca cagcccttgtat tctgcgtgag aaaggctatc tctacagaaaa ctaaaaacggt 60  
atcaacggtt tctgtacagc acagattatg acagcgtctt tcttaagaag aga atg 116

Met

1

ttt aaa ttt cat caa atg aaa cat att ttt gaa ata ctt gat aaa atg 164

Phe Lys Phe His Gln Met Lys His Ile Phe Glu Ile Leu Asp Lys Met  
 5 10 15  
 aga tgc ctg aga aaa cgt tct aca gtg tca ttc ttg gga gtt ctt gtc 212  
 Arg Cys Leu Arg Lys Arg Ser Thr Val Ser Phe Leu Gly Val Leu Val  
 20 25 30  
 att ttt ctc ctt ttt atg aac ttg tac att gaa gat agc tat gtt ctg 260  
 Ile Phe Leu Leu Phe Met Asn Leu Tyr Ile Glu Asp Ser Tyr Val Leu  
 35 40 45  
 gaa gga gac aaa caa ctt ata agg gaa aca tcc aca cat caa ctg aat 308  
 Glu Gly Asp Lys Gln Leu Ile Arg Glu Thr Ser Thr His Gln Leu Asn  
 50 55 60 65  
 tca gaa cgc tat gtt cat act ttc aag gat tta tct aat ttc tca gga 356  
 Ser Glu Arg Tyr Val His Thr Phe Lys Asp Leu Ser Asn Phe Ser Gly  
 70 75 80  
 gcc ata aat gtc acc tat cgc tac cta gct gcc aca cct tta caa aga 404  
 Ala Ile Asn Val Thr Tyr Arg Tyr Leu Ala Ala Thr Pro Leu Gln Arg  
 85 90 95  
 aag cgg tat ctt aca att gga ctt tct tca gta aag cga aaa aaa gga 452  
 Lys Arg Tyr Leu Thr Ile Gly Leu Ser Ser Val Lys Arg Lys Lys Gly  
 100 105 110  
 aac tat tta ctt gag aca att aag tca att ttt gag caa tcc agc tat 500  
 Asn Tyr Leu Leu Glu Thr Ile Lys Ser Ile Phe Glu Gln Ser Ser Tyr  
 115 120 125  
 gaa gag ctg aag gaa att tca gtg gtg att cac cta gca gac ttt aat 548

Glu Glu Leu Lys Glu Ile Ser Val Val Ile His Leu Ala Asp Phe Asn  
 130 135 140 145  
 tct tcc tgg cgt gat gcc atg gtc cag gat att aca cag aaa ttt gcg 596  
 Ser Ser Trp Arg Asp Ala Met Val Gln Asp Ile Thr Gln Lys Phe Ala  
 150 155 160  
 cac cat att att gca gga aga tta atg gtt ata cat gct cca gag gag 644  
 His His Ile Ile Ala Gly Arg Leu Met Val Ile His Ala Pro Glu Glu  
 165 170 175  
 tat tac cca atc cta gat ggc ctt aaa aga aat tac aat gat cca gaa 692  
 Tyr Tyr Pro Ile Leu Asp Gly Leu Lys Arg Asn Tyr Asn Asp Pro Glu  
 180 185 190  
 gat aga gtc aaa ttt cgt tcc aag caa aat gta gat tat act ttt ctg 740  
 Asp Arg Val Lys Phe Arg Ser Lys Gln Asn Val Asp Tyr Thr Phe Leu  
 195 200 205  
 ctt aat ttt tgt gcc aat act tca gac tat tat gta atg ctt gaa gat 788  
 Leu Asn Phe Cys Ala Asn Thr Ser Asp Tyr Tyr Val Met Leu Glu Asp  
 210 215 220 225  
 gat gtt cga tgt tca aaa aat ttc tta act gcc atc aag aaa gtc att 836  
 Asp Val Arg Cys Ser Lys Asn Phe Leu Thr Ala Ile Lys Lys Val Ile  
 230 235 240  
 gca tcc cta gaa gga act tac tgg gta act ctt gaa ttc tct aag ctt 884  
 Ala Ser Leu Glu Gly Thr Tyr Trp Val Thr Leu Glu Phe Ser Lys Leu  
 245 250 255  
 ggc tac att ggt aaa ctc tat cat tct cat gat ctc cca cgt ttg gcc 932

Gly Tyr Ile Gly Lys Leu Tyr His Ser His Asp Leu Pro Arg Leu Ala  
 260 265 270  
 cat ttt tta tta atg ttt tat caa gaa atg cct tgt gat tgg cta ttg 980  
 His Phe Leu Leu Met Phe Tyr Gln Glu Met Pro Cys Asp Trp Leu Leu  
 275 280 285  
 act cat ttc cgt ggt ctg ttg gct cag aaa aat gtg atc cgt ttt aaa 1028  
 Thr His Phe Arg Gly Leu Leu Ala Gln Lys Asn Val Ile Arg Phe Lys  
 290 295 300 305  
 cca tct ctc ttt cag cac atg ggc tat tat tca tca tac aaa ggg acg 1076  
 Pro Ser Leu Phe Gln His Met Gly Tyr Tyr Ser Ser Tyr Lys Gly Thr  
 310 315 320  
 gag aat aag ctt aag gat gat gat ttt gaa gag gag tca ttt gac att 1124  
 Glu Asn Lys Leu Lys Asp Asp Asp Phe Glu Glu Glu Ser Phe Asp Ile  
 325 330 335  
 cct gat aac ccc cct gca agt ctg tac acc aac atg aat gtg ttt gaa 1172  
 Pro Asp Asn Pro Pro Ala Ser Leu Tyr Thr Asn Met Asn Val Phe Glu  
 340 345 350  
 aat tat gaa gca agc aag gct tac agt agt gtt gat gag tac ttt tgg 1220  
 Asn Tyr Glu Ala Ser Lys Ala Tyr Ser Ser Val Asp Glu Tyr Phe Trp  
 355 360 365  
 ggg aaa cca cct tca aca gga gat gtt ttt gtg att gta ttt gaa aat 1268  
 Gly Lys Pro Pro Ser Thr Gly Asp Val Phe Val Ile Val Phe Glu Asn  
 370 375 380 385  
 cca att ata ata aaa aaa att aaa gta aat act gga aca gaa gat cgg 1316

Pro Ile Ile Ile Lys Lys Ile Lys Val Asn Thr Gly Thr Glu Asp Arg  
 390 395 400  
 caa aat gat att ttg cat cat gga gcc cta gat gtt ggg gaa aac gtt 1364  
 Gln Asn Asp Ile Leu His His Gly Ala Leu Asp Val Gly Glu Asn Val  
 405 410 415  
 atg cct agc aaa caa agg gga caa tgt tct act tac tta aga cta gga 1412  
 Met Pro Ser Lys Gln Arg Gly Gln Cys Ser Thr Tyr Leu Arg Leu Gly  
 420 425 430  
 gaa ttc aaa aat gga aac ttt gaa atg tca ggt gta aat caa aaa att 1460  
 Glu Phe Lys Asn Gly Asn Phe Glu Met Ser Gly Val Asn Gln Lys Ile  
 435 440 445  
 cca ttt gat ata cat tgt atg agg ata tat gtc acc aaa aca caa aag 1508  
 Pro Phe Asp Ile His Cys Met Arg Ile Tyr Val Thr Lys Thr Gln Lys  
 450 455 460 465  
 gaa tgg cta att att agg agt att agc att tgg act tct tagccaatta 1557  
 Glu Trp Leu Ile Ile Arg Ser Ile Ser Ile Trp Thr Ser  
 470 475  
 aatcagtgatg ttcaagtttctt gaagcagttc ttccctgtttc gtccttttgtt accttttgtt 1617  
 ttggaggga aagcaatggaa tgggataatgt taaaagaaac attaattaca ttggcagttt 1677  
 tcatttatac attgttgaca taattttactt cttaaatacac acttgttattt attttaacgtt 1737  
 ctgaagttga atatcagtttctt atagctaatg ctactttcat ttatattttt aaatgttctt 1797  
 agttttaaaa ttcaactga tttgtcgaaag ggtaatatga aagatttttaa atgaaaaaaaaa 1857  
 ttgttgat gatgatttt gaaaaatagt caccaactgt atatacttcc tcaagaacttg 1917  
 ataattcatt atatcatcag atagctttta ttaagccatctt gttggaaatat acatgtttgggt 1977

ggaatgataa tctggtttat ttttttgta aacttaagtt tccgttgact tctgtacatc 2037  
tacaatgaat acctccatcat agaagtggtg tctttacata atttttgtg tagtgacac 2097  
tatggaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa 2131

⟨210⟩ 9

⟨211⟩ 335

⟨212⟩ PRT

⟨213⟩ Homo sapiens

⟨400⟩ 9

Met Asp Ser Ala Leu Ser Asp Pro His Asn Gly Ser Ala Glu Ala Gly

1 5 10 15

Gly Pro Thr Asn Ser Thr Thr Arg Pro Pro Ser Thr Pro Glu Gly Ile

20 25 30

Ala Leu Ala Tyr Gly Ser Leu Leu Leu Met Ala Leu Leu Pro Ile Phe

35 40 45

Phe Gly Ala Leu Arg Ser Val Arg Cys Ala Arg Gly Lys Asn Ala Ser

50 55 60

Asp Met Pro Glu Thr Ile Thr Ser Arg Asp Ala Ala Arg Phe Pro Ile

65 70 75 80

Ile Ala Ser Cys Thr Leu Leu Gly Leu Tyr Leu Phe Phe Lys Ile Phe

85 90 95

Ser Gln Glu Tyr Ile Asn Leu Leu Leu Ser Met Tyr Phe Phe Val Leu

100 105 110  
Gly Ile Leu Ala Leu Ser His Thr Ile Ser Pro Phe Met Asn Lys Phe  
115 120 125  
Phe Pro Ala Ser Phe Pro Asn Arg Gln Tyr Gln Leu Leu Phe Thr Gln  
130 135 140  
Gly Ser Gly Glu Asn Lys Glu Glu Ile Ile Asn Tyr Glu Phe Asp Thr  
145 150 155 160  
Lys Asp Leu Val Cys Leu Gly Leu Ser Ser Ile Val Gly Val Trp Tyr  
165 170 175  
Leu Leu Arg Lys Val Phe Gly Thr Asn Val Met Val Thr Val Ala Lys  
180 185 190  
Ser Phe Glu Ala Pro Ile Lys Leu Val Phe Pro Gln Asp Leu Leu Glu  
195 200 205  
Lys Gly Leu Glu Ala Asn Asn Phe Ala Met Leu Gly Leu Gly Asp Val  
210 215 220  
Val Ile Pro Gly Ile Phe Ile Ala Leu Leu Leu Arg Phe Asp Ile Ser  
225 230 235 240  
Leu Lys Lys Asn Thr His Thr Tyr Phe Tyr Thr Ser Phe Ala Ala Tyr  
245 250 255  
Ile Phe Gly Leu Gly Leu Thr Ile Phe Ile Met His Ile Phe Lys His  
260 265 270  
Ala Gln Pro Ala Leu Leu Tyr Leu Val Pro Ala Cys Ile Gly Phe Pro  
275 280 285  
Val Leu Val Ala Leu Ala Lys Gly Glu Val Thr Glu Met Phe Ser Tyr

290 295 300

Glu Glu Ser Asn Pro Lys Asp Pro Ala Ala Val Thr Glu Ser Lys Glu

305 310 315 320

Gly Thr Glu Ala Ser Ala Ser Lys Gly Leu Glu Lys Lys Glu Lys

325 330 335

<210> 10

<211> 1005

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 10

atggactcgg cccicagcga tccgcataac ggcagtgccg aggcaggcgg ccccaccaac 60

agcactacgc ggccgccttc cacgcccag ggcatgcgc tggctacgg cagcctccctg 120

ctcatggcgc tgcgtccccat ctcttcggc gcccgcgc tccgtacgc tgcgtccggc 180

aagaatgctt cagacaigcc taaaacaatc accagccggg atgccgcctt ctccccatc 240

atcgccagct gcacactttt gggctctac ctcttttca aaatatttctc ccaggagttac 300

atcaacctcc tgcgtccat gtattttttctt gtcgtggaa tccgtggccctt gtcccacacc 360

atcagccccctt tcatgaataa gttttttcca gcccgcctt caaatcgaca gtaccagctg 420

ctcttcacac agggttctgg ggaaaacaag gaagagatca tcaattatga atttgcacacc 480

aaggaccctgg tttgtccctggg ccttgcgcgc atcggtggcg tctggtaacc tgcgtggaaag 540

gtatttggca ccaatgtgtt ggtgtacgtt gccaagtcc tcgaggcacc aataaaattt 600

gtgtttcccccc aggtatgttggt ggagaaaggc ctcgaagcaa acaacatttgc catgtggga 660

cttggagatg tcgtcatatcc agggatcttc attgccttgc tgctgcgcct tgacatcagc 720  
tttgaagaaga atacccacac ctatcttac accagcttgc cagcctacat ctctggccct 780  
ggccttacca tcttcatcat gcacatcttc aagcatgctc agcctggccct cctataccct 840  
gtccccgcct gcatcggttt tccctgtccctt gtggcgctgg ccaagggaga agtgacagag 900  
atgttcagtt atgaggagtc aaatcctaag gatccagcgg cagtgcacaga atccaaagag 960  
ggaacagagg catcagcattc gaaggggctg gagaagaaag agaaa 1005

<210> 11

<211> 1486

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone OA004b derived from T98G cell

<220>

<221> CDS

<222> (117)..(1121)

<400> 11

cacgtcactt ccgtttgcct taggggaacg tggcttccccc tgcagagccg gtgtctccgc 60  
ctgcgtccct gctgcagcaa ccggagctgg agtccggatcc cgaacgcacc ctgcctt atg 119

Met

1

gac tcg gcc ctc agc gat ccg cat aac ggc agt gcc gag gca ggc ggc 167

Asp Ser Ala Leu Ser Asp Pro His Asn Gly Ser Ala Glu Ala Gly Gly

5

10

15

ccc acc aac agc act acg cgg ccg cct tcc acg ccc gag ggc atc gcg 215

Pro Thr Asn Ser Thr Thr Arg Pro Pro Ser Thr Pro Glu Gly Ile Ala

20

25

30

ctg gcc tac ggc agc ctc ctg ctc atg gcg ctg ctg ccc atc ttc ttc 263

Leu Ala Tyr Gly Ser Leu Leu Leu Met Ala Leu Leu Pro Ile Phe Phe

35

40

45

ggc gcc ctg cgc tcc gta cgc tgc gcc cgc ggc aag aat gct tca gac 311

Gly Ala Leu Arg Ser Val Arg Cys Ala Arg Gly Lys Asn Ala Ser Asp

50

55

60

65

atg cct gaa aca atc acc agc cgg gat gcc gcc cgc ttc ccc atc atc 359

Met Pro Glu Thr Ile Thr Ser Arg Asp Ala Ala Arg Phe Pro Ile Ile

70

75

80

gcc agc tgc aca ctc ttg ggg ctc tac ctc ttt ttc aaa ata ttc tcc 407

Ala Ser Cys Thr Leu Leu Gly Leu Tyr Leu Phe Phe Lys Ile Phe Ser

85

90

95

cag gag tac atc aac ctc ctg ctg tcc atg tat ttc ttc gtg ctg gga 455

Gln Glu Tyr Ile Asn Leu Leu Ser Met Tyr Phe Phe Val Leu Gly

100

105

110

atc ctg gcc ctg tcc cac acc atc agc ccc ttc atg aat aag ttt ttt 503

Ile Leu Ala Leu Ser His Thr Ile Ser Pro Phe Met Asn Lys Phe Phe

115                    120                    125  
cca gcc agc ttt cca aat cga cag tac cag ctg ctc ttc aca cag ggt    551  
Pro Ala Ser Phe Pro Asn Arg Gln Tyr Gln Leu Leu Phe Thr Gln Gly  
130                    135                    140                    145  
tct ggg gaa aac aag gaa gag atc atc aat tat gaa ttt gac acc aag    599  
Ser Gly Glu Asn Lys Glu Glu Ile Ile Asn Tyr Glu Phe Asp Thr Lys  
150                    155                    160  
gac ctg gtg tgc ctg ggc ctg agc agc atc gtt ggc gtc tgg tac ctg    647  
Asp Leu Val Cys Leu Gly Leu Ser Ser Ile Val Gly Val Trp Tyr Leu  
165                    170                    175  
ctg agg aag gta ttt ggc acc aat gtg atg gtg aca gtg gcc aag tcc    695  
Leu Arg Lys Val Phe Gly Thr Asn Val Met Val Thr Val Ala Lys Ser  
180                    185                    190  
ttc gag gca cca ata aaa ttg gtg ttt ccc cag gat ctg ctg gag aaa    743  
Phe Glu Ala Pro Ile Lys Leu Val Phe Pro Gln Asp Leu Leu Glu Lys  
195                    200                    205  
ggc ctc gaa gca aac aac ttt gcc atg ctg gga ctt gga gat gtc gtc    791  
Gly Leu Glu Ala Asn Asn Phe Ala Met Leu Gly Leu Gly Asp Val Val  
210                    215                    220                    225  
att cca ggg atc ttc att gcc ttt ctg ctg cgc ttt gac atc agc ttg    839  
Ile Pro Gly Ile Phe Ile Ala Leu Leu Leu Arg Phe Asp Ile Ser Leu  
230                    235                    240  
aag aag aat acc cac acc tac ttc tac acc agc ttt gca gcc tac atc    887  
Lys Lys Asn Thr His Thr Tyr Phe Tyr Thr Ser Phe Ala Ala Tyr Ile

245	250	255	
ttc ggc ctc ggc ctt acc atc ttc atc atg cac atc ttc aag cat gct			935
Phe Gly Leu Gly Leu Thr Ile Phe Ile Met His Ile Phe Lys His Ala			
260	265	270	
cag cct gcc ctc cta tac ctg gtc ccc gcc tgc atc ggt ttt cct gtc			983
Gln Pro Ala Leu Leu Tyr Leu Val Pro Ala Cys Ile Gly Phe Pro Val			
275	280	285	
ctg gtg gcg ctg gcc aag gga gaa gtg aca gag atg ttc agt tat gag			1031
Leu Val Ala Leu Ala Lys Gly Glu Val Thr Glu Met Phe Ser Tyr Glu			
290	295	300	305
gag tca aat cct aag gat cca gcg gca gtg aca gaa tcc aaa gag gga			1079
Glu Ser Asn Pro Lys Asp Pro Ala Ala Val Thr Glu Ser Lys Glu Gly			
310	315	320	
aca gag gca tca gca tcg aag ggg ctg gag aag aaa gag aaa			1121
Thr Glu Ala Ser Ala Ser Lys Gly Leu Glu Lys Lys Glu Lys			
325	330	335	
tgatgcggct ggigccccgag ccicicaggg ccagaccaga cagaatggggg ctggggccac 1181			
acaggcgtgc accggtagag ggcacaggag gccaagggca gctccaggac agggcagggg 1241			
gcagcaggat acctccagcc aggcctctgt ggcctctgtt tccttcctcc tttcttgcc 1301			
ctcctctgtt cctccccaca cccigcaggc aaaagaaacc cccagcttcc cccctccccg 1361			
ggagccaggat gggaaaatgtt gggtgtgtttt tagatttttt tattgtggac tgattttgcc 1421			
tcacattaaa aactcaatccc atggccaggg cgggccactg tgctccctgaa aaaaaaaaaa 1481			
aaaaaa			1486

〈210〉 12

<211> 360

〈212〉 PRT

〈213〉 *Homo sapiens*

〈400〉 12

Met Arg Trp Ile Leu Phe Ile Gly Ala Leu Ile Gly Ser Ser Ile Cys

Gly Gln Glu Lys Phe Phe Gly Asp Gln Val Phe Arg Ile Asn Val Arg

1                    5                    10                    15

Asn Gly Asp Glu Ile Ser Lys Leu Ser Gln Leu Val Asn Ser Asn Asn

20 25 30

Leu Lys Leu Asn Phe Trp Lys Ser Pro Ser Ser Phe Asn Arg Pro Val

35 40 45

Asp Val Leu Val Pro Ser Val Ser Leu Gln Ala Phe Lys Ser Phe Leu

50 55 60

Arg Ser Gln Gly Leu Glu Tyr Ala Val Thr Ile Glu Asp Leu Gln Ala

65                    70                    75                    80

Leu Leu Asp Asn Glu Asp Asp Glu Met Gln His Asn Glu Gly Gln Glu

85 90 95

Arg Ser Ser Asn Asn Phe Asn Tyr Gly Ala Tyr His Ser Leu Glu Ala

100 105 110

Ile Tyr His Glu Met Asp Asn Ile Ala Ala Asp Phe Pro Asp Leu Ala

115                    120                    125  
Arg Arg Val Lys Ile Gly His Ser Phe Glu Asn Arg Pro Met Tyr Val  
130                    135                    140  
Leu Lys Phe Ser Thr Gly Lys Gly Val Arg Arg Pro Ala Val Trp Leu  
145                    150                    155                    160  
Asn Ala Gly Ile His Ser Arg Glu Trp Ile Ser Gln Ala Thr Ala Ile  
165                    170                    175  
Trp Thr Ala Arg Lys Ile Val Ser Asp Tyr Gln Arg Asp Pro Ala Ile  
180                    185                    190  
Thr Ser Ile Leu Glu Lys Met Asp Ile Phe Leu Leu Pro Val Ala Asn  
195                    200                    205  
Pro Asp Gly Tyr Val Tyr Thr Gln Thr Gln Asn Arg Leu Trp Arg Lys  
210                    215                    220  
Thr Arg Ser Arg Asn Pro Gly Ser Ser Cys Ile Gly Ala Asp Pro Asn  
225                    230                    235                    240  
Arg Ser Trp Asn Ala Ser Phe Ala Gly Lys Gly Ala Ser Asp Asn Pro  
245                    250                    255  
Cys Ser Glu Val Tyr His Gly Pro His Ala Asn Ser Glu Val Glu Val  
260                    265                    270  
Lys Ser Val Val Asp Phe Ile Gln Lys His Gly Asn Phe Lys Cys Phe  
275                    280                    285  
Ile Asp Leu His Ser Tyr Ser Gln Leu Leu Met Tyr Pro Tyr Gly Tyr  
290                    295                    300  
Ser Val Lys Lys Ala Pro Asp Ala Glu Glu Leu Asp Lys Val Ala Arg

305 310 315 320  
Leu Ala Ala Lys Ala Leu Ala Ser Val Ser Gly Thr Glu Tyr Gln Val  
325 330 335  
Gly Pro Thr Cys Thr Thr Val Leu  
340

〈210〉 13

<211> 1080

<212> DNA

〈213〉 *Homo sapiens*

<400> 13

cctgtggcca atcctgatgg atatgtgtat actcaaactc aaaaccgatt atggaggaag 720  
acgcggtccc gaaatccctgg aagctccctgc aatggcgctg acccaaatacg aagcttggAAC 780  
gctatgttttgc caggaaaggg agccagcgac aacccttgttccgaagtgttccatggaccc 840  
cacgccaattt cggaaagtggaa ggtagaaatca gtggtagatt tcatccaaaa acatggaaat 900  
ttcaagtgttccatcgaccc gcacagctac tcgcagctgc tggatgtatcc atatgggtac 960  
ttagtccaaaa aggccccaga tgccgaggaa ctgcacaagg tggcgaggct tgccggccaaa 1020  
gctctggctt ctgtgtcggtt cactgagttac caagtgggtc ccacctgcac cactgtttta 1080

<210> 14

<211> 3156

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> Clone OAF075b derived from human bone marrow stroma cell HAS303

<220>

<221> CDS

<222> (11)..(1090)

<220>

<221> sig\_peptide

<222> (11)..(58)

<220>

<221> mat\_peptide

<222> (59)..(1090)

<400> 14

ccccggggac atg agg tgg ata ctg ttc att ggg gcc ctt att ggg tcc 49  
Met Arg Trp Ile Leu Phe Ile Gly Ala Leu Ile Gly Ser  
-15 -10 -5  
agc atc tgt ggc caa gaa aaa ttt ttt ggg gac caa gtt ttt agg att 97  
Ser Ile Cys Gly Gln Glu Lys Phe Phe Gly Asp Gln Val Phe Arg Ile  
-1 1 5 10  
aat gtc aga aat gga gac gag atc agc aaa ttg agt caa cta gtg aat 145  
Asn Val Arg Asn Gly Asp Glu Ile Ser Lys Leu Ser Gln Leu Val Asn  
15 20 25  
tca aac aac ttg aag ctc aat ttc tgg aaa tct ccc tcc tcc ttc aat 193  
Ser Asn Asn Leu Lys Leu Asn Phe Trp Lys Ser Pro Ser Ser Phe Asn  
30 35 40 45  
cgg cct gtg gat gtc ctg gtc cca tct gtc agt ctg cag gca ttt aaa 241  
Arg Pro Val Asp Val Leu Val Pro Ser Val Ser Leu Gln Ala Phe Lys  
50 55 60  
tcc ttc ctg aga tcc cag ggc tta gag tac gca gtg aca att gag gac 289  
Ser Phe Leu Arg Ser Gln Gly Leu Glu Tyr Ala Val Thr Ile Glu Asp  
65 70 75

ctg cag gcc ctt tta gac aat gaa gat gat gaa atg caa cac aat gaa 337  
Leu Gln Ala Leu Leu Asp Asn Glu Asp Asp Glu Met Gln His Asn Glu  
80 85 90  
ggg caa gaa cgg agc agt aat aac ttc aac tac ggg gct tac cat tcc 385  
Gly Gln Glu Arg Ser Ser Asn Asn Phe Asn Tyr Gly Ala Tyr His Ser  
95 100 105  
ctg gaa gct att tac cac gag atg gac aac att gcc gca gac ttt cct 433  
Leu Glu Ala Ile Tyr His Glu Met Asp Asn Ile Ala Ala Asp Phe Pro  
110 115 120 125  
gac ctg gcg agg agg gtg aag att gga cat tcg ttt gaa aac cgg ccg 481  
Asp Leu Ala Arg Arg Val Lys Ile Gly His Ser Phe Glu Asn Arg Pro  
130 135 140  
atg tat gta ctg aag ttc agc act ggg aaa ggc gtg agg cgg ccg gcc 529  
Met Tyr Val Leu Lys Phe Ser Thr Gly Lys Gly Val Arg Arg Pro Ala  
145 150 155  
gtt tgg ctg aat gca ggc atc cat tcc cga gag tgg atc tcc cag gcc 577  
Val Trp Leu Asn Ala Gly Ile His Ser Arg Glu Trp Ile Ser Gln Ala  
160 165 170  
act gca atc tgg acg gca agg aag att gta tct gat tac cag agg gat 625  
Thr Ala Ile Trp Thr Ala Arg Lys Ile Val Ser Asp Tyr Gln Arg Asp  
175 180 185  
cca gct atc acc tcc atc ttg gag aaa atg gat att ttc ttg ttg cct 673  
Pro Ala Ile Thr Ser Ile Leu Glu Lys Met Asp Ile Phe Leu Leu Pro  
190 195 200 205

gtg gcc aat cct gat gga tat gtg tat act caa act caa aac cga tta 721  
Val Ala Asn Pro Asp Gly Tyr Val Tyr Thr Gln Thr Gln Asn Arg Leu  
210 215 220  
tgg agg aag acg cgg tcc cga aat cct gga agc tcc tgc att ggt gct 769  
Trp Arg Lys Thr Arg Ser Arg Asn Pro Gly Ser Ser Cys Ile Gly Ala  
225 230 235  
gac cca aat aga agc tgg aac gct agt ttt gca gga aag gga gcc agc 817  
Asp Pro Asn Arg Ser Trp Asn Ala Ser Phe Ala Gly Lys Gly Ala Ser  
240 245 250  
gac aac cct tgc tcc gaa gtg tac cat gga ccc cac gcc aat tcg gaa 865  
Asp Asn Pro Cys Ser Glu Val Tyr His Gly Pro His Ala Asn Ser Glu  
255 260 265  
gtg gag gtg aaa tca gtg gta gat ttc atc caa aaa cat ggg aat ttc 913  
Val Glu Val Lys Ser Val Val Asp Phe Ile Gln Lys His Gly Asn Phe  
270 275 280 285  
aag tgc ttc atc gac ctg cac agc tac tcg cag ctg ctg atg tat cca 961  
Lys Cys Phe Ile Asp Leu His Ser Tyr Ser Gln Leu Leu Met Tyr Pro  
290 295 300  
tat ggg tac tca gtc aaa aag gcc cca gat gcc gag gaa ctc gac aag 1009  
Tyr Gly Tyr Ser Val Lys Lys Ala Pro Asp Ala Glu Glu Leu Asp Lys  
305 310 315  
gtg gcg agg ctt gcg gcc aaa gct ctg gct tct gtg tcg ggc act gag 1057  
Val Ala Arg Leu Ala Ala Lys Ala Leu Ala Ser Val Ser Gly Thr Glu  
320 325 330

tac caa gtg ggt ccc acc tgc acc act gtc tta taaaactggccaa aactgggag 1110

Tyr Gln Val Gly Pro Thr Cys Thr Thr Val Leu

335 340

tggggcacag aagcttgtat acccttttc atacaggagg gaggagatgt atggactggg 2430  
gaggtgggag gcagataattt caggaagggtg agggcggag ctgtacagga acaaagcttg 2490  
tcttattaag cagataaaagt cctccaggca atcctttgga gctgcctca gaagaataga 2550  
tgaagtctgtt ctgggtgtgg tgaatgatcc cagtcctatc tcttcgtgtt gtttacttt 2610  
cttggttatt tgaatgagacc tctaggagg gtgttaaga caattgcatt tctttggaa 2670  
agatgccttc ttggtcagat gaggaaattt ccaaagacag acagtccttc cctgtgtttg 2730  
gtggtggggc aggtatgggg aacaagaagt tagagggacc ttggttcggg ggcggctct 2790  
gagggccctc agcatgtcaa aacatcagcc ttggatata cacttctga gccccaaacc 2850  
ttgttaatgtt ctaaaatgtc cacctagaga atgcaggata aatacacatt tggtgcatcc 2910  
acacaatgca gcaactacgga gcccattaaat gaatgaggta gatctatgtg cgctaaaagg 2970  
gaataactcac caattgtttaa ttgaaaata catgtgcaga acagcgtaa tagtgtgttc 3030  
ccattttttgc ttgttgtttaat tgttttaaa gagtaggttag actttcagca gggacccaaa 3090  
taaagtgaag ttacaaaact tcgtcatttt gactgaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3150  
aaaaaaaaa 3156

<210> 15

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer

〈400〉 15

cgattgaatt ctagacctgc ctgcgagnnnn nnnnn

〈210〉 16

〈211〉 27

〈212〉 DNA

〈213〉 Artificial Sequence

〈220〉

〈223〉 Description of Artificial Sequence:Primer OC001-F1

〈400〉 16

gtccttcagc aaaacagtgg atttaaa

27

〈210〉 17

〈211〉 27

〈212〉 DNA

〈213〉 Artificial Sequence

〈220〉

〈223〉 Description of Artificial Sequence:Primer OM237-F1

<400> 17

ccagaaagca cagccctgat tctgcgt

27

<210> 18

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:Primer OA004-F1

<220>

<221> modified base

<222> 1

<223> biotin conjugated base

<400> 18

atgcacatct tcaaggatgc tcag

24

<210> 19

<211> 27

<212> DNA

〈213〉 Artificial Sequence

〈220〉

〈223〉 Description of Artificial Sequence:Primer OAF075-F1

〈400〉 19

ccccggggac atgagggtgga tactgtt

27

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/JP99/02485

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
Int.Cl<sup>6</sup> C12N15/12, C12N5/10, C07K14/47, C07K16/18, A61K38/17, G01N33/50

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
Int.Cl<sup>6</sup> C12N15/12, C12N5/10, C07K14/47, C07K16/18, A61K38/17, G01N33/50

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
DDBJ/GenBank/EMBL/GENESEQ/Swiss-Prot/PIR

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	J. Neurosci., Vol. 15, No. 3 (1995) A.F. Struyk et al., "Cloning of neusotrimin defines a new subfamily of differentially expressed neural cell adhesion molecules", p.2141-2156	1-10
X	J. Neurosci., Vol. 16, No. 5 (1996) F. Spaltmann et al., "CEPU-1, a novel immunoglobulin superfamily molecule, is expressed by developing cerebellar purkinje cells", p.1770-1779	1-10
X	Gene, Vol. 155, No. 2 (1995) K.B. Shark and N.M. Lee; "Cloning, sequencing and localization to chromosome 11 of a cDNA encoding a human opioid-binding cell adhesion molecule (OBCAM)", p.213-217	1-10
X	EMBO J., Vol. 8, No. 2 (1989) P.R. Schofield et al., "Molecular characterization of a new immunoglobulin superfamily protein with potential roles in opioid binding and cell contact", p.489-495	1-10

Further documents are listed in the continuation of Box C.  See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubt on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 2 August, 1999 (02. 08. 99)	Date of mailing of the international search report 10 August, 1999 (10. 08. 99)
--	--

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
--	--------------------

Facsimile No.	Telephone No.
---------------	---------------

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/JP99/02485

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Gene, Vol. 117, No. 2 (1992) D.A. Lippman et al., "Opioid-binding cell adhesion molecule (OBCAM)-related clones from a rat brain cDNA library", p.249-254	1-10
X	J. Cell Sci., Vol. 109, No. 13 (1996) D.J.A. Wilson et al., "A family of glycoproteins (GP55), which inhibit neurite outgrowth, are members of the Ig superfamily and are related to OBCAM, neurotrimin, LAMP and CEPU-1", p.3129-3138	1-10

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.  
PCT/JP99/02485

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
  
2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
  
3.  Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

The polypeptides comprising the amino acid sequences represented by SEQ ID NOS: 1, 4, 6, 9 and 12 as set forth in claim 1 have a matter in common of being a novel secretory protein originating in a gene isolated from a cDNA library obtained from brain-tissue derived cells.

However, distribution proteins encoded by cDNAs originating in brain tissues are not novel (a number of proteins secreted by brain tissues such as opioid peptides, tachykinin and neuropeptides are publicly known).

Such being the case, the polypeptides comprising the amino acid sequences

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
  
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:  
(a) The parts relating to SEQ ID NO:1 in claims 1 to 3, (b) the part relating to SEQ ID NO:2 in claim 4, (c) the part relating to SEQ ID NO:3 in claim 5, and the parts relating to any of the sequences of (a) to (c) in claim 6 to 10.

Remark on Protest  The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP99/02485

Continuation of Box No. II of continuation of first sheet (1)

represented by SEQ ID NOS: 1, 4, 6, 9 and 12 as set forth in claim 1 have no matter in common. Since there is no other matter seemingly corresponding to a special technical matter in the meaning as specified in the second sentence of Rule 13.2 of the Regulations under the PCT, these inventions differing from each other do not have technical relevancy to each other in the meaning as specified in Rule 13 of the Regulations under the PCT.

It is therefore obvious that the polypeptides comprising the amino acid sequences represented by SEQ ID NOS: 1, 4, 6, 9 and 12 as set forth in claim 1 do not comply with the requirement of unity of invention.

The same applies to cDNAs, expression vectors, host cells, processes for producing polypeptides, antibodies and medicinal compositions as set forth in claims 2 to 10.

## 国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP99/02485

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl' C12N15/12, C12N5/10, C07K14/47, C07K16/18, A61K38/17,  
G01N33/50

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

Int.Cl' C12N15/12, C12N5/10, C07K14/47, C07K16/18, A61K38/17,  
G01N33/50

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

DDBJ/GenBank/EMBL/GENESEQ/Swiss-Prot/PIR

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	J. Neurosci., Vol. 15, No. 3(1995) A. F. Struyk et al.; "Cloning of neuromodulin defines a new subfamily of differentially expressed neural cell adhesion molecules", p. 2141-2156	1-10
X	J. Neurosci., Vol. 16, No. 5(1996) F. Spaltmann et al.; "CEPU-1, a novel immunoglobulin superfamily molecule, is expressed by developing cerebellar Purkinje cells", p. 1770-1779	1-10
X	Gene, Vol. 155, No. 2(1995) K. B. Stark and N. M. Lee; "Cloning, sequencing and localization to chromosome 11 of a cDNA encoding a human opioid-binding cell adhesion molecule (OBCAM)", p. 213-217	1-10

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

## の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

02.08.99

国際調査報告の発送日

10.08.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

滝本 晶子

4B 9452



電話番号 03-3581-1101 内線 3448

## C (続き) . 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	EMBO J., Vol. 8, No. 2(1989)P. R. Schofield et al.; "Molecular characterization of a new immunoglobulin superfamily protein with potential roles in opioid binding and cell contact", p. 489-495	1-10
X	Gene, Vol. 117, No. 2(1992)D. A. Lippman et al.; "Opioid-binding cell adhesion molecule(OBCAM)-related clones from a rat brain cDNA library", p. 249-254	1-10
X	J. Cell Sci., Vol. 109, No. 13(1996)D. J. A. Wilson et al; "A family of glycoproteins(GP55), which inhibit neurite outgrowth, are members of the Ig superfamily and are related to OBCAM, neurotrimin, LAMP and CEPU-1", p. 3129-3138	1-10

## 第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT第17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1.  請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2.  請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3.  請求の範囲 \_\_\_\_\_ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

## 別紙

1.  出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2.  追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3.  出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4.  出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

(a)請求の範囲1～3の配列番号1に関する部分、(b)請求の範囲4の配列番号2に関する部分、(c)請求の範囲5の配列番号3に関する部分、及び、請求の範囲6～10の前記(a)～(c)のいずれかの配列に対応する部分

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。  
 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

## 第II欄

請求の範囲1に記載の配列番号1、4、6、9または12で示されるアミノ酸配列からなるポリペプチドに共通の事項は、脳組織由来の細胞より得られたcDNAライブラリーより単離された遺伝子由来の新規な分泌蛋白質である。

しかしながら、脳組織由来のcDNAにコードさせる分布蛋白質は、新規でない(セオトペプチド、タキニ、ニューロテンシン等々、多数の脳組織より分泌される蛋白質が公知である。)

それ故、請求の範囲1に記載の配列番号1、4、6、9または12で示されるアミノ酸配列からなるポリペプチドに共通の事項はない。PCT規則13.2の第2文の意味において特別な技術的事項と考えられる他の事項は存在しないので、それらの相違する発明の間にPCT規則13の意味における技術的な連関を見いだすことはできない。

結局、請求の範囲1に記載の配列番号1、4、6、9または12で示されるアミノ酸配列からなるポリペプチドは発明の單一性の要件を満たしていないことが明らかである。

また、請求の範囲2-10に記載のcDNA、発現ベクター、宿主細胞、ポリペプチドの製造方法、抗体及び薬学的組成物についても同様である。